

UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

ANNEE : 2018

THESES 2018 TOU3 2083

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présenté et soutenu publiquement

Par

DOUET Tiphaine

Née le 10 juillet 1991 à Dinan (22)

**EVALUATION DES PERFORMANCES DE SEPT REACTIFS AUTOMATISES
POUR LE DEPISTAGE SEROLOGIQUE DE LA TOXOPLASMOSE
CHEZ LES PATIENTS IMMUNODEPRIMES**

19 octobre 2018

Directeur de thèse : FILLAUX Judith

JURY

Président : Mr le Professeur VALENTIN Alexis
1er assesseur : Mme le Professeur LACHAUD Laurence
2ème assesseur : Mme le Docteur CHAUVIN Paméla
3ème assesseur : Mme le Docteur FILLAUX Judith

PERSONNEL ENSEIGNANT

de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques de l'Université Paul Sabatier au 08 janvier 2018

Professeurs Emérites

M. BENOIST H.	Immunologie
M. BERNADOU J.	Chimie Thérapeutique
M. CAMPISTRON G.	Physiologie
M. CHAVANT L.	Mycologie
M. MOULIS C.	Pharmacognosie
M. ROUGE P.	Biologie Cellulaire
M. SIE P.	Hématologie

Professeurs des Universités

Hospitalo-Universitaires

Mme AYYOUB M.	Immunologie
M. CHATELUT E.	Pharmacologie
M. FAVRE G.	Biochimie
Mme GANDIA P.	Pharmacologie
M. PARINI A.	Physiologie
M. PASQUIER C. (Doyen)	Bactériologie - Virologie
Mme ROQUES C.	Bactériologie - Virologie
Mme ROUSSIN A.	Pharmacologie
Mme SALLERIN B.	Pharmacie Clinique
M. VALENTIN A.	Parasitologie

Universitaires

Mme BARRE A.	Biologie
Mme BAZIARD G.	Chimie pharmaceutique
Mme BENDERBOUS S.	Mathématiques – Biostat.
Mme BERNARDES-GÉNISSON V.	Chimie thérapeutique
Mme COUDERC B.	Biochimie
M. CUSSAC D. (Vice-Doyen)	Physiologie
Mme SIXOU S.	Biochimie
M. FABRE N.	Pharmacognosie
M. GAIRIN J-E.	Pharmacologie
Mme GIROD-FULLA NA S.	Pharmacie Galénique
Mme MULLER-STAU MONT C.	Toxicologie - Sémiologie
Mme NEPVEU F.	Chimie analytique
M. SALLES B.	Toxicologie
M. SEGUI B.	Biologie Cellulaire
M. SOUCHARD J-P.	Chimie analytique
Mme TABOULET F.	Droit Pharmaceutique
M. VERHAEGHE P.	Chimie Thérapeutique

Maîtres de Conférences des Universités

Hospitalo-Universitaires

M. CESTAC P.	Pharmacie Clinique
Mme DE MAS MANSAT V. (*)	Hématologie
Mme JUILLARD-CONDA T B.	Droit Pharmaceutique
M. PUISSET F.	Pharmacie Clinique
Mme ROUZAUD-LABORDE C.	Pharmacie Clinique
Mme SERONIE-VIVIEN S.	Biochimie
Mme THOMAS F. (*)	Pharmacologie

Universitaires

Mme ARELLANO C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme AUTHIER H.	Parasitologie
M. BERGE M. (*)	Bactériologie - Virologie
Mme BON C.	Biophysique
M. BOUJILA J. (*)	Chimie analytique
Mme BOUTET E. (*)	Toxicologie - Sémiologie
M. BROUILLET F.	Pharmacie Galénique
Mme CABOU C.	Physiologie
Mme CAZALBOU S. (*)	Pharmacie Galénique
Mme CHAPUY-REGAUD S.	Bactériologie - Virologie
Mme COLACIOS-VIATGE C.	Immunologie
Mme COSTE A. (*)	Parasitologie
M. DELCOURT N.	Biochimie
Mme DERA EVE C.	Chimie Thérapeutique
Mme ECHINARD-DOUIN V.	Physiologie
Mme EL GARAH F.	Chimie Pharmaceutique
Mme EL HAGE S.	Chimie Pharmaceutique
Mme FALLONE F.	Toxicologie
Mme FERNANDEZ-VIDA L A.	Toxicologie
Mme HALOVA-LAJOIE B.	Chimie Pharmaceutique
Mme JOUANJUS E.	Pharmacologie
Mme LAJOIE-MAZENC I.	Biochimie
Mme LEFEVRE L.	Physiologie
Mme LE LAMER A-C.	Pharmacognosie
M. LEMARIE A.	Biochimie
M. MARTI G.	Pharmacognosie
Mme MIREY G. (*)	Toxicologie
Mme MONFERRAN S.	Biochimie
M. Olichon A.	Biochimie
Mme REYBIER-VUATTOUX K. (*)	Chimie Analytique
M. SAINTE-MARIE Y.	Physiologie
M. STIGLIANI J-L.	Chimie Pharmaceutique
M. SUDOR J. (*)	Chimie Analytique
Mme TERRISSE A-D.	Hématologie
Mme TOURRETTE-DIALO A.	Pharmacie Galénique
Mme VANSTEELANDT M.	Pharmacognosie
Mme WHITE-KONING M. (*)	Mathématiques

(*) Titulaire de l'habilitation à diriger des recherches (HDR)

Enseignants non titulaires

Assistants Hospitalo-Universitaires

Mme COOL C.	Physiologie
M. MOUMENI A.	Biochimie
M. METSU D.	Pharmacologie
Mme PALUDETTO M.N.	Chimie thérapeutique
M. PAGES A.	Pharmacie Clinique
M. PERES M.	Immunologie
Mme SALABERT A.S	Biophysique

REMERCIEMENTS

Je remercie Monsieur le Professeur, Alexis Valentin, de m'avoir fait l'honneur d'être le président de ce jury de thèse. Merci pour votre enseignement durant mon stage de Parasitologie.

Je tiens à remercier Madame le Professeur Laurence Lachaud, d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse et d'avoir fait le déplacement depuis Montpellier.

Je tiens à remercier Madame le Docteur Paméla Chauvin, pour avoir accepté d'être dans mon jury de thèse. Merci pour votre enseignement durant mon stage de Parasitologie.

Je tiens à remercier, tout particulièrement, le Docteur Judith Fillaux, d'avoir accepté de me confier ce sujet de thèse, de m'avoir guidée dans la réalisation de ce travail, d'avoir toujours été disponible, à l'écoute. Merci pour tes nombreuses relectures et pour le temps que tu m'as accordé.

Je tiens à remercier ma famille :

D'abord mes parents, c'est grâce à vous si j'en suis là aujourd'hui. Vous m'avez toujours poussée à travailler, à persévérer, vous m'avez soutenue, aidée à traverser des épreuves, vous avez accepté mes choix, même celui de quitter la Bretagne. Merci pour tout, je vous aime.

A ma sœur, Pauline, ma brillante et belle infirmière, je suis si fière de toi, tu as toujours su donner le meilleur de toi-même pour obtenir ce que tu souhaites. Les années nous ont rapproché, même si tu es la plus jeune, tu es souvent celle qui est de bons conseils. Merci d'être là. Théo prend bien soin d'elle.

A mes grands-parents, Emilienne, Jean et Jeannine et Louis. Papy Louis tu nous as quittés trop tôt, je sais que tu aurais été là pour ce grand moment, j'espère que tu es fière de moi. Mamie Jeannine, celle qui me gardait quand j'étais petite, qui avait toujours une boîte remplie de malabars, qui fait les meilleures galettes et qui a essayé de m'apprendre à coudre.

A mes tantes ; Nadine, Rachel, Annie et Isabelle, mes oncles ; Thierry et Stéphane, mes cousins ; Thomas, Nathan, Thibaut, Noémie et François. Merci d'être une famille si géniale, les repas de famille sont toujours un plaisir, remplis de fous rires et de bons souvenirs.

A mes amis de toujours et pour toujours. Notre amitié s'est créée au lycée, 3 années mémorables, des repas au self toujours très animés, des trajets en bus à refaire le monde, et surtout nos premières soirées. Puis nous avons tous pris des voies différentes, mais le nouvel an est toujours là pour nous réunir au quel s'est rajouté notre rendez-vous annuel à l'île de Ré.

A ma meilleure amie, Julie, je ne remercierais jamais assez la personne qui m'a fait croiser ton chemin en 2nd2, notre amitié a été une évidence. Un soutien infailible. Des antimancheries qui finissent toujours par des moments magiques. Après neuf ans d'étude tu deviens Avocate au même moment où je deviens Docteur (enfin j'espère). Merci d'avoir relu et corrigé ma thèse. A nos longues années d'amitiés et à nos prochaines aventures. Merci César de la rendre heureuse #soulieursusés.

A Momo, mon plus vieil ami, le grand et la petite comme on aime nous appeler. Merci de me supporter depuis 24 ans maintenant. Merci de nous faire rire (histoire de la grenouille dont nous ne nous lasserons jamais), d'être aussi gentil et généreux.

A Marie, ma tite cléo, une rencontre en latin et toujours amies. Tellement fière de toi et de ton parcours, te voilà Prof d'Histoire-Géo, merci de nous faire partager les pépites de tes élèves. Ma prédiction de mariage pour 2018 fut un échec mais je ne désespère pas, je mise sur 2021 maintenant. Hâte d'y être.

A Alexandre, le collègue et surtout le lycée nous ont permis de créer une belle amitié. Plein de beaux projets pour Mégane et toi, tellement contente que tu aies rencontré une belle et adorable chérie.

A Mathieu, celui avec qui j'ai refait le monde le matin dans le bus pour aller au lycée. Merci de m'avoir supportée. Fait bien attention à toi et plein de bonheur avec Aude.

A Geoffrey, toujours une blague à faire, un jeu de mot, on ne s'en lasse jamais. Merci à Alexandre d'avoir permis cette rencontre, et si tu as lu plus haut, 2021, je compte sur toi.

A Jérémy, le dernier arrivé, d'ailleurs on ne sait toujours pas comment. Merci pour ces bals à Plouasne, Saint-Juvat, Lanrelas et d'autres contrées. Plein de bonheur à Avy et toi.

A mes copines rencontrées sur les bancs de la fac, Chloé, Julie, Maiwenn, Fanny et Caroline. Les fous rires en TP, les WEI, et notre séjour Marseillais (merci Jean-Louis et le bras d'enfant) nous ont rapprochées.

A Laura, ma coloc, quand je repense à ce moment où en terminale nous ne nous connaissons pas mais nous allions faire pharma ensemble donc pourquoi pas faire une coloc. Nous nous sommes vite liées d'amitié et beaucoup soutenues dans les moments difficiles. Malgré la distance, toujours présente l'une pour l'autre et pour longtemps encore. Avec Maxime vous formez un jeune couple de mariés au top, toujours de bonne humeur et motivé.

A mes co-internes rencontrés au cours de ces 4 dernières années.

D'abord les rencontres limougeaues, ma Poupette d'amour, ma morue portugaise, toujours rayonnante, une discussion et ça y est nous étions amies, depuis on ne se quitte

plus. A Vanessa, Maud et Anne-Sophie, pour ces voyages, j'espère qu'ils seront encore nombreux. A Pierre, le savoyard, un jour on arrivera à te faire aimer le Muevelo et puis désolée mais on sait que c'est moi qui aime le plus ta femme.

Puis les nombreuses rencontres toulousaines : Alice-Anne, Jules, Elodie, Marion, Thibaut, Laurie, Morgane, Manu, Camille, Julien, Louis-Thomas, Thomas, Etienne, Grégoire, Samuel, Damien, Karen, Noémie, Sarah, Audrey, Hélène, Hadrien, Agnès, Hugo, Aude, Caroline et Antoine. Merci pour ces moments passés au labo ou en dehors.

Merci à toi, mon cœur, d'être entré dans ma vie et de l'avoir rendu plus belle. Merci de m'avoir soutenu pendant l'internat et surtout pendant cette thèse. Il me tarde de continuer à construire notre avenir ensemble. Je t'aime

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

AUC : Area Under Curve

CLIA : ChemiLuminescence Immuno Assay

CMIA : Chemiluminescent Microparticle Immuno Assay

D/R : Donneur/Receveur

DOM-TOM : Département Outre Mer –Territoire Outre Mer

ECLIA : ElectroChemiLuminescence Immuno Assay

EIA : Enzyme Immuno Assay

ELFA : Enzyme Linked Fluorescence Assay

ELISA : Enzyme Linked-Immunosorbant Assay

IFA : Immunofluorescence assay

IFN : Interféron

Ig: Immunoglobuline

IS : International Standard

LCR : Liquide Céphalo-Rachidien

PAS : Periodic Acid Schiff

PCR : Polymerase Chain Reaction

SIDA : Syndrome Immunodéficience Acquise

WB : Western blot

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	13
LA TOXOPLASMOSE CHEZ L'IMMUNODEPRIME	14
I. Les 3 stades de <i>T. gondii</i>	14
A. Le tachyzoïte	14
B. Le bradyzoïte.....	15
C. Le sporozoïte.....	15
II. Le cycle	15
III. Epidémiologie	17
IV. Les présentations cliniques.....	18
A. Infection chez les receveurs de cellules souches hématopoïétiques	18
B. Infection chez les patients transplantés d'organes solides.....	19
C. Prévention chez les patients greffés	19
LA SEROLOGIE TOXOPLASMOSE	23
I. Cinétique des anticorps	23
II. Techniques sérologiques.....	23
A. Le Dye Test.....	24
B. Le Western blot.....	25
C. Immunofluorescence indirecte (IFI)	25
D. Techniques d'agglutination.....	25
E. Tests immunoenzymatiques.....	26
EVALUATION DE SEPT REACTIFS COMMERCIALISES	28
I. Contexte	28
II. Matériel et méthode.....	29
A. Population étudiée.....	29
B. Réactifs utilisés	29
C. Analyse statistique	33

III. Résultats.....	33
A. Patients et sérums.....	33
B. Sensibilité et spécificité aux seuils préconisés par le fournisseur	35
C. Performance analytique et adaptation des seuils.....	36
D. Sensibilités et spécificités aux nouveaux seuils.....	39
E. Profils des Westerns blots	40
IV. Discussion.....	42
V. Conclusion	47
BIBLIOGRAPHIE.....	48

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Illustration d'un tachyzoïte.....	14
Figure 2 : Cycle de vie de <i>T. gondii</i> (2).....	16
Figure 3 : Algorithme pour la sérologie chez les patients immunodéprimés (16).....	20
Figure 4 : Cinétique des anticorps (2).....	23
Figure 5 : ELISA indirecte	27
Figure 7 : Illustration de Western Blot.	33
Figure 8 : Répartition des valeurs des dosages en fonction des techniques.....	34
Figure 9 : Aires sous la courbe ROC.....	37
Figure 10 : Profil des Western blots positifs	41
Figure 11 : Profil des Western blots négatifs	41

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Définition de la toxoplasmose après transplantation (12).....	21
Tableau II : Seuils fournisseurs des différents automates étudiés	30
Tableau III : Nombre de négatifs, douteux et positifs pour chaque technique (nombre de LDBio II positifs pour chaque cas, N=82)	35
Tableau IV : Sensibilité, spécificité, VPP, VPN de chaque réactif, prévalence de 36,7 %.....	36
Tableau Va et Tableau Vb : Sensibilités et spécificités d'Architect et de Platelia en fonction du seuil.....	38
Tableau VI : Sensibilité et spécificité de Roche en fonction du seuil	38
Tableau VIIa et VIIb : Sensibilités et spécificités d'Access II et de TGS TA en fonction du seuil	39
Tableau VIIIa et VIIIb : Sensibilités et spécificités de Liaison XL et de Vidas II en fonction du seuil.....	39
Tableau IX : Nombre de sérums négatifs, douteux et positifs pour Architect, Platelia et Roche avec les nouveaux seuils (nombre de LDBio II positifs pour chaque cas, N=82)	39
Tableau X : Sensibilité, spécificité, VPP, VPN des réactifs (nouveaux seuils), prévalence de 36,7 %	40
Tableau XI : Profil du WB pour les sérums dans la zone grise de chaque technique (nouveau seuil)	42

Introduction

La toxoplasmose est une maladie répandue dans le monde entier, elle est causée par *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*). C'est un parasite ubiquitaire intracellulaire obligatoire, appartenant aux protozoaires, phylum des Apicomplexa, à la classe des Sporozoa et à la sous classe des Coccidia (1). La toxoplasmose est une maladie bénigne passant, le plus souvent, inaperçue chez les sujets immunocompétents, mais pouvant être mortelle chez les sujets immunodéprimés, en l'absence de traitement. Le diagnostic de cette maladie repose, essentiellement, sur des tests sérologiques. Ces techniques de screening permettent d'établir le statut immunologique des patients, et donc le risque de primo-infection ou de risque de réactivation chez le patient immunodéprimé. Les patients immunodéprimés présentent souvent des taux faibles d'IgG. Les différentes techniques sérologiques peuvent donc rendre un résultat négatif, alors que le patient est immunisé mais avec un taux d'IgG inférieur au seuil de positivité défini par les fabricants. Dans cette étude, nous avons cherché à évaluer la sensibilité de sept réactifs utilisés pour le dépistage des IgG dans une population de patients immunodéprimés. De plus pour cette population avec des taux faibles d'IgG, une modification des seuils des techniques a été proposée.

La toxoplasmose chez l'immunodéprimé

I. Les 3 stades de *T. gondii*

A. Le tachyzoïte

Le tachyzoïte est un stade de multiplication rapide qui peut envahir toutes les cellules des hôtes intermédiaires. Le tachyzoïte a une forme de croissant d'environ 5 micromètres de long et 2 micromètres de large avec une pointe apicale et un pôle postérieur arrondi. Le tachyzoïte est limité par une pellicule associée au cytosquelette. Il possède une structure interne complexe comprenant un noyau, une mitochondrie, un appareil de Golgi, des ribosomes, un réticulum endoplasmique et un apicoplaste. Au niveau de la partie apicale, on retrouve le conoïde, les rhoptries (organes sécréteurs), les micronèmes et les granules denses (2), qui seraient impliqués dans la pénétration de la cellule hôte et la création d'un environnement favorable au développement du parasite (3). Le tachyzoïte pénètre activement dans la cellule hôte avec formation d'une vacuole parasitophore dont les constituants sont issus à la fois de la cellule hôte et du parasite. Dans cette vacuole, le tachyzoïte va se multiplier de façon asexuée par endogénie. Après un certain nombre de cycles, la concentration du Ca^{2+} dans la cellule augmente entraînant sa lyse et la libération des tachyzoïtes qui vont infecter de nouvelles cellules (4). Le tachyzoïte est fragile en dehors des cellules hôtes. Il est responsable des infections congénitales.

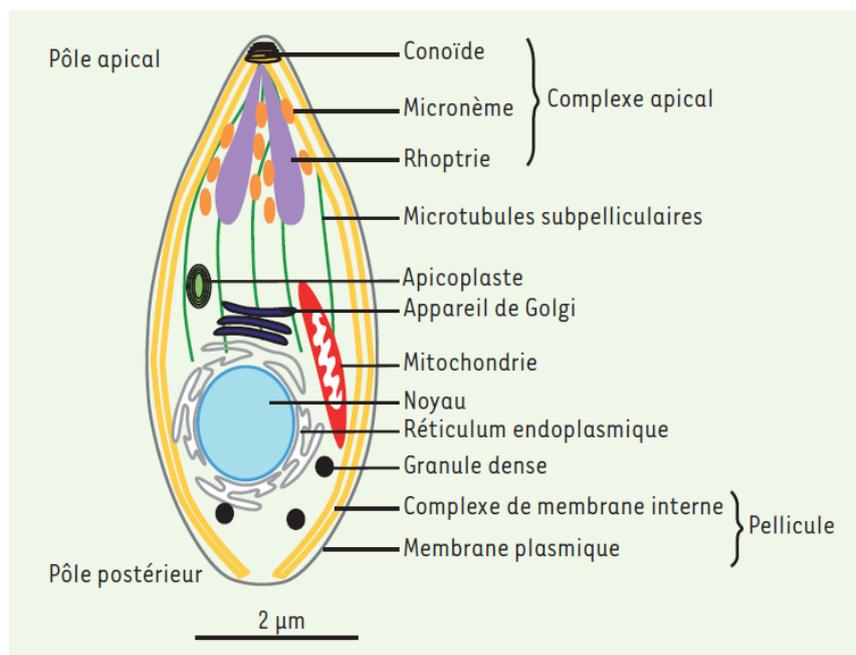


Figure 1 : Illustration d'un tachyzoïte

B. Le bradyzoïte

Le bradyzoïte est un stade de multiplication lente qui est retrouvé dans les kystes tissulaires et résulte de la transformation du tachyzoïte. Les kystes varient d'une taille de 10 micromètres pour les plus jeunes contenant quelques bradyzoïtes, à des kystes de plus de 100 micromètres contenant des centaines de bradyzoïtes, pour les plus vieux. Les kystes sont le plus souvent retrouvés au niveau du cerveau où ils ont une forme sphéroïde et au niveau des muscles où ils ont une forme allongée. Toutefois, des kystes peuvent aussi être retrouvés dans le foie, les poumons et le rein. La structure du bradyzoïte se différencie de celle du tachyzoïte par la position du noyau au niveau de la terminaison postérieure. Les granules du bradyzoïte prennent la coloration au PAS (Periodic Acide Schiff), à la différence des granules du tachyzoïte (5). Les bradyzoïtes produisent des antigènes qui traversent la membrane kystique, permettant d'entretenir l'immunité (immunité de type cellulaire, impliquant les lymphocytes TCD8 et des cytokines IFN γ).

Les kystes restent infectieux jusqu'à 3 semaines dans les viandes réfrigérées (1-6°C) et trois jours si congélation à -12°C ou moins. Ils sont tués lors d'une cuisson à 67°C, et après 3 minutes de cuisson à 64°C (6).

C. Le sporozoïte

Le sporozoïte se trouve dans l'oocyste mature. L'oocyste mesure de 11 à 13 μm de diamètre et est issu de la multiplication sexuée ayant lieu chez les félinés uniquement. Un à cinq jours après l'excrétion, l'oocyste va sporuler et devenir mature. Il contient deux sporocystes contenant chacun quatre sporozoïtes qui sont semblables aux tachyzoïtes. L'oocyste possède une paroi robuste, permettant au parasite de survivre plus d'un an dans l'environnement. Les climats chauds et humides favorisent la survie des oocystes à la différence des climats secs ou froids (2). Les oocystes sont retrouvés dans l'eau et les sols, souvent responsables de la contamination des fruits et des légumes. Ils restent viables après congélation à -21°C pendant 28 jours. Ils sont détruits rapidement lors d'une cuisson supérieure à 55°C.

II. Le cycle

Les hôtes définitifs de *T. gondii* sont les félinés (cycle sexué). Les hôtes intermédiaires sont les animaux à sang chaud (cycle asexué), hommes, ovins, bovins, oiseaux... Les chats se contaminent par ingestion, soit de kystes contenant des bradyzoïtes, soit d'oocystes contenant

des sporozoïtes. Les bradyzoïtes et les sporozoïtes infectent les cellules intestinales des félinés et se multiplient, c'est la schizogonie (cycle asexué), aboutissant à la formation de schizontes qui contiennent des mérozoïtes. Lors de la lyse des cellules intestinales, les mérozoïtes sont libérés et infectent de nouvelles cellules. Les mérozoïtes se différencient, alors, en gamètes mâles et femelles, c'est la gamogonie, aboutissant à la formation d'un oocyste non sporulé. Cet oocyste est éliminé dans l'environnement (sporogonie). Après quelques jours, l'oocyste sporule, devient mature et infestant. Un chat infecté excrète dans ses fèces plusieurs millions d'oocystes. Les hôtes intermédiaires se contaminent, soit par ingestion de viande contenant des kystes, soit par ingestion d'oocystes présents dans l'environnement (eau, terre...). Comme chez les félinés, les bradyzoïtes et les sporozoïtes infectent les cellules intestinales, se différencient en tachyzoïtes qui se multiplient. Puis les tachyzoïtes traversent la barrière intestinale et envahissent les monocytes, qui permettent une dissémination du parasite dans tout l'organisme. Dans les tissus, les tachyzoïtes deviennent des bradyzoïtes et forment des kystes tissulaires.

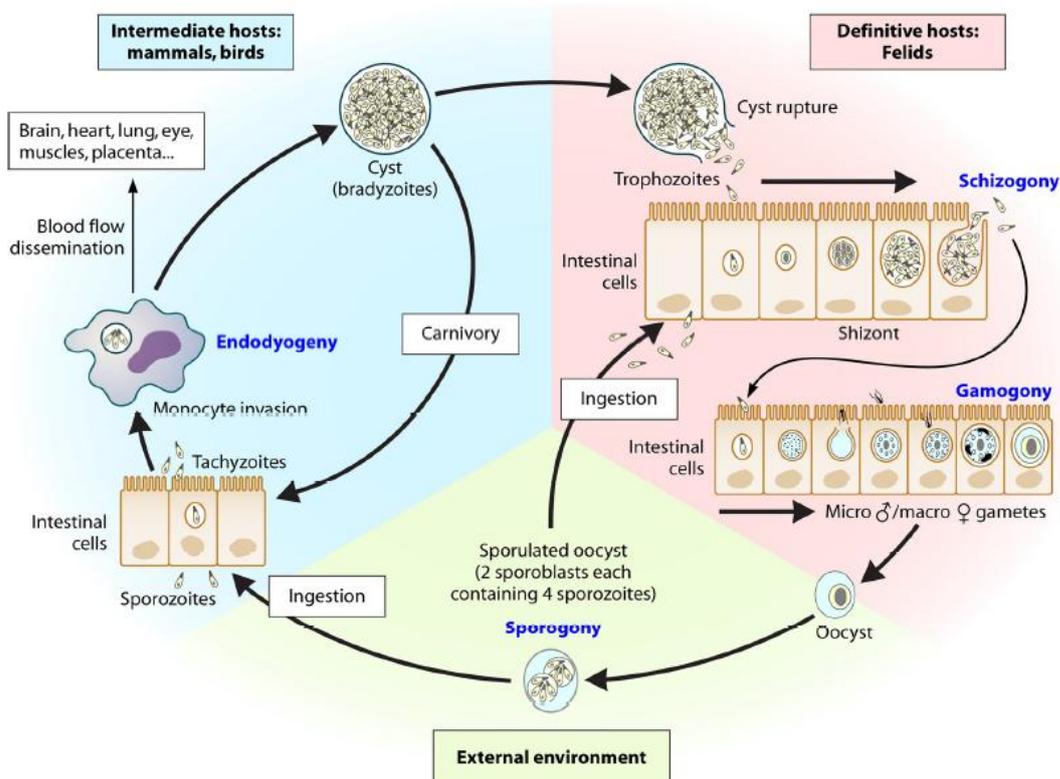


Figure 2 : Cycle de vie de *T. gondii* (2)

III. Epidémiologie

La séroprévalence mondiale de la toxoplasmose est d'environ 30 %, mais varie de 10 à 80 % selon les pays. Cette disparité est due aux différentes habitudes alimentaires (viande crue ou bien cuite), à la localisation géographique (climat aride ou humide) et au contexte socio-économique. Les prévalences les plus faibles sont observées en Amérique du Nord, Asie du Sud-Est et Europe du Nord, et les plus hautes dans les pays tropicaux d'Afrique et d'Amérique (7,8).

En France, la séroprévalence varie entre 30 et 50 % dans la population générale, la contamination étant principalement due à la consommation de viande peu cuite et de viande de mouton. En 2010, la séroprévalence était de 36,7 % chez les femmes en âge de procréer. Une augmentation de la prévalence avec l'âge est observée ainsi qu'une disparité géographique, séroprévalence plus importante en région parisienne, DOM-TOM et sud-ouest et plus faible dans l'est, le centre-est et l'ouest (9). Entre 1995 et 2010, la séroprévalence de la toxoplasmose est passée de 54,3 % à 36,7 %, liée à l'amélioration de l'hygiène alimentaire et à la modification des habitudes alimentaires humaines (9). La virulence des souches de *T. gondii* dépend du type de génotype. En fonction des zones géographiques, les génotypes identifiés sont différents. En France, trois génotypes de *T. gondii* sont majoritairement retrouvés, avec une prédominance importante du génotype II qui représente environ 90 % des souches isolées. Le génotype III et le génotype I sont rarement à très rarement mis en évidence (2). En Afrique, Asie et Amérique du Sud, les souches isolées appartiennent à des génotypes « atypiques » (autres que I, II, III) provenant de recombinaisons génétiques. Chez la souris, le génotype I est très virulent, alors que les génotypes II et III ne sont pas virulents. Pour les génotypes atypiques, la virulence est variable, mais les souches avec une majorité d'allèles de génotype I sont plus virulentes.

Chez l'Homme, la virulence des souches ne dépend pas uniquement du génotype mais dépend aussi des facteurs de l'hôte (statut immunitaire, inoculum, infection par des bradyzoïtes ou des sporocystes...) (10). Chez les patients immunocompétents, la toxoplasmose est le plus souvent asymptomatique, mais chez les patients immunodéprimés elle peut entraîner des manifestations graves pouvant aller jusqu'au décès du patient.

IV. Les présentations cliniques

L'immunodépression se définit comme une diminution des défenses immunitaires. L'immunodépression peut être due à une maladie (cancer, SIDA, diabète) ou à des traitements immunosuppresseurs (patients receveurs d'organes solides ou de cellules souches hématopoïétiques).

Chez ces patients, la toxoplasmose est une infection opportuniste grave pouvant survenir sous différentes formes :

- Une réactivation d'une toxoplasmose ancienne due à un déficit de l'immunité cellulaire T, retrouvée surtout chez les patients VIH avec un taux de CD4 < 100/mm³ et chez les patients greffés de moelle en l'absence de chimioprophylaxie.
- Une primo infection le plus souvent secondaire à une transplantation d'organe « contaminé » provenant d'un donneur séropositif pour la toxoplasmose et transmis à un receveur séronégatif.
- Les patients receveurs d'organes solides ou de cellules souches hématopoïétiques peuvent aussi développer des primo-infections sévères après la greffe (11).

A. Infection chez les receveurs de cellules souches hématopoïétiques

Il existe 2 types de greffes de cellules souches hématopoïétiques, la greffe autologue où le donneur et le receveur sont la même personne, et la greffe allogénique où le donneur et le receveur sont des personnes différentes.

Les cas de toxoplasmose suite à une greffe autologue sont rares et il s'agit souvent des primo-infections.

La toxoplasmose est plus fréquente chez les greffés allogéniques. C'est une infection grave avec 60 à 100 % de mortalité s'il n'y a pas de mise en place rapide d'un traitement (12). L'incidence est difficile à évaluer mais elle varierait de 0,2 à 4 %, avec une incidence plus élevée dans les pays où la prévalence de la toxoplasmose est plus forte (13). Elle survient, le plus souvent, chez les patients receveurs séropositifs, lors de la réactivation d'une infection latente, due à l'immunodépression. Il y a alors réactivation des kystes puis dissémination hématogène. Cette réactivation a souvent lieu dans les trois premiers mois suivant la greffe, avec 95 % des cas survenant dans les six premiers mois post-greffe. L'organe le plus souvent atteint est le système nerveux central, puis les poumons et le cœur. Dans la plupart des cas,

les manifestations ne sont pas spécifiques, la fièvre étant le signe clinique le plus fréquent. Les receveurs séronégatifs peuvent s'infecter par ingestion de viandes contaminées par des kystes ou par ingestion d'oocystes en post-greffe (13).

Lors d'une greffe allogénique, si le donneur a développé une toxoplasmose quelques jours avant le don, on pourra retrouver des tachyzoïtes dans le sang lors du recueil et donc une transmission au receveur est possible, c'est un risque potentiel mais qui n'a jamais été confirmé.

La greffe de cellules souches de cordon semble être un facteur de risque important pour développer une toxoplasmose (14).

B. Infection chez les patients transplantés d'organes solides

Le risque de toxoplasmose sévère est souvent dû à la différence de statut sérologique entre le donneur et le receveur. En effet si le donneur est séropositif et le receveur séronégatif, lors de la transplantation, il peut y avoir réactivation des kystes situés dans le greffon, entraînant une primo-infection grave chez le receveur. Il y a plus de risques lors de transplantation cardiaque car des kystes sont souvent présents dans le muscle cardiaque (13). Les symptômes cliniques apparaissent dans les trois premiers mois suivant la transplantation et entraînent des myocardites fébriles, des péricardites et des pneumopathies. Les cas de toxoplasmose transmise par un autre organe que le cœur lors d'une transplantation sont plus rares, certains ont été rapportés lors de transplantation de rein, de foie ou de pancréas (15). La toxoplasmose pourra aussi être la conséquence d'une réactivation d'une infection latente chez le receveur positif ou d'une primo-infection post-transplantation chez le receveur négatif.

C. Prévention chez les patients greffés

1. La sérologie pré-greffe

La réglementation française impose le dépistage de la toxoplasmose (sans précision des tests à mettre en œuvre) chez le donneur pour tout prélèvement d'organes ou de cellules d'origine humaine conformément à l'article 3 de l'arrêté du 23 décembre 2010 (mise en application de l'article R. 1211-16 du Code de la santé publique). Ce texte précise que les analyses peuvent être réalisées en différé, dans les heures suivant le prélèvement, sans que l'absence de leur résultat ne fasse obstacle à la réalisation de la greffe (8). La sérologie toxo-

plasmosis is not, in contrast, mandatory for recipients. In other countries, no obligation to perform this serology is mentioned in the laws.

It is therefore mandatory to perform toxoplasmosis serology in organ donors and hematopoietic stem cell donors but it also seems important to know the immune status of the recipient, before starting immunosuppressive treatments. This can sometimes be difficult due to an underlying immunodeficiency due to the hematological disease or to treatments already in place.

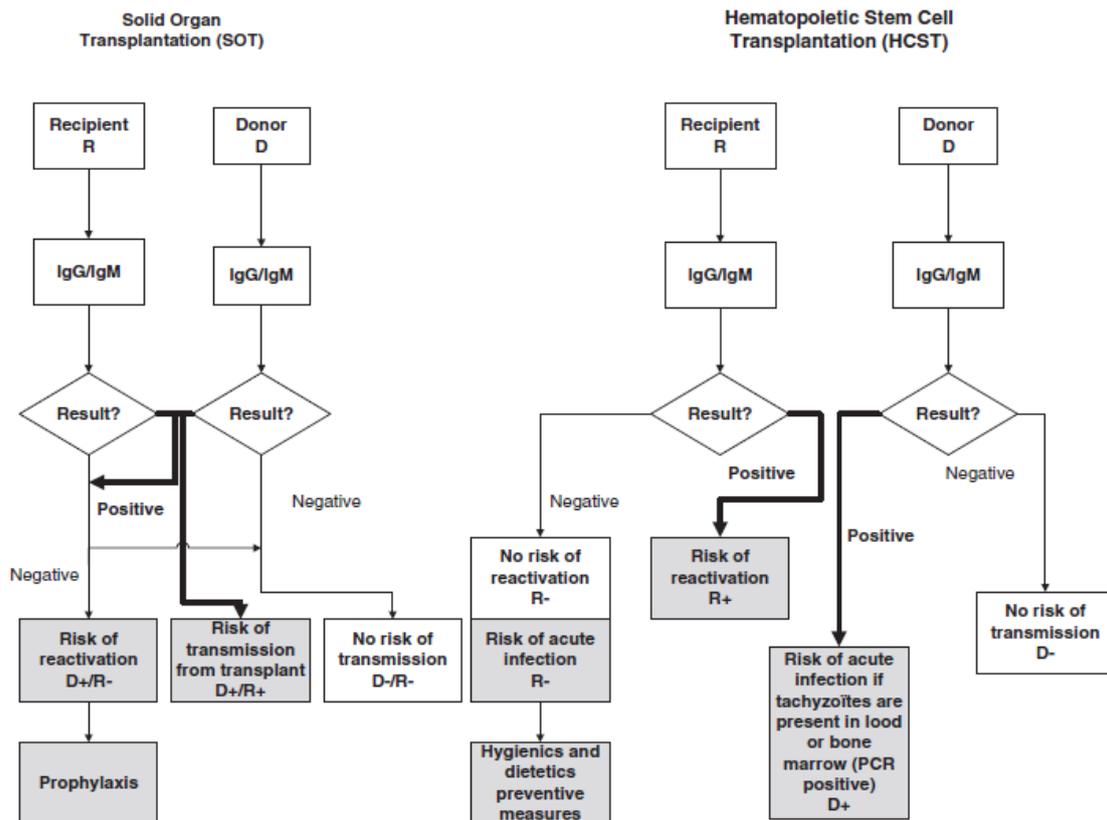


Figure 3 : Algorithme pour la sérologie chez les patients immunodéprimés (16)

2. La PCR post-greffe

La PCR est une technique sensible permettant la détection d'ADN circulant de *T. gondii* dans le sang, le LCR, le lavage bronchoalvéolaire. La PCR peut être positive avant l'apparition de signes cliniques. Une PCR positive ne signifie pas forcément que le patient est malade, c'est pourquoi il a fallu définir la toxoplasmose infection et la toxoplasmose maladie (Tableau I).

Tableau I : Définition de la toxoplasmose après transplantation (12)

Infection	PCR positive dans le sang du patient sans évidence d'atteinte d'un organe ou séroconversion toxoplasmique après la transplantation chez un patient séronégatif
Maladie	Mise en évidence histologique ou cytologique de tachyzoïtes dans des échantillons obtenus par biopsie ou lavage bronchoalvéolaire, ou à l'autopsie.
Maladie probable	Preuves cliniques et radiologiques suggérant l'atteinte d'un organe avec au moins une PCR positive (sang, LCR ou LBA), mais pas de confirmation histologique et absence d'autres pathogènes pouvant expliquer la pathologie
Maladie possible	TDM ou IRM cérébrale suggérant une toxoplasmose cérébrale et réponse au traitement anti-toxoplasmose, mais pas de test de laboratoire mettant en évidence <i>T.gondii</i> et pas d'autres pathogènes pouvant expliquer cette pathologie.

Dans une étude prospective, sur 106 patients séropositifs greffés par des cellules souches hématopoïétiques, 16 avaient une PCR positive (16 % de toxoplasmose infection) et six ont développé par la suite une toxoplasmose maladie (6 %) malgré la mise en place d'un traitement (14).

Cette stratégie préemptive est donc utile pour les patients séropositifs greffés par des cellules souches hématopoïétiques, en raison du risque important de réactivation, ainsi que pour les patients transplantés d'organes solides avec discordance sérologique (D+/R-).

La détection précoce d'ADN permet d'initier un traitement rapidement et de diminuer la mortalité.

3. La sérologie post-greffe

Chez les patients immunodéprimés, la production d'anticorps et leur cinétique sont altérées, la place de la sérologie toxoplasmose dans la surveillance de ces patients après leur transplantation est limitée. Elle peut être utile chez les transplantés d'organes solides, notamment chez les D+/R-, pour la mise en évidence d'une séroconversion avec apparition d'IgM puis d'IgG chez le receveur (17). Chez les receveurs séropositifs, une augmentation des IgG n'est pas corrélée à une toxoplasmose maladie (18). Les tests sérologiques ne doivent pas être utilisés seuls dans le suivi des patients transplantés mais peuvent être utilisés en complément de la PCR, tout en connaissant leurs limites.

4. Chimio prophylaxie

Pour les patients greffés de cellules souches hématopoïétiques, une prophylaxie par triméthoprime/sulfaméthoxazole 80/400 mg par jour ou 160/800 mg trois fois par semaine est

recommandée chez les patients séropositifs. Elle est le plus souvent initiée 30 jours après la greffe et jusqu'à six mois post-greffe ; c'est à ce moment que le taux de réactivation est le plus important (8,13). Lorsque le triméthoprime/sulfaméthoxazole ne peut être utilisé, notamment en raison de son effet myélosuppressif, d'autres traitements prophylactiques peuvent être mis en place comme : l'atovaquone, ou le pyriméthamine associé à la sulfadoxine, sulfadiazine, dapsonne, azithromycine ou clindamycine (8). Chez les patients transplantés d'organes solides, le risque de transmission est limité aux receveurs séronégatifs ayant un donneur séropositif. Pendant les six premiers mois suivant la greffe, une prophylaxie par triméthoprime/sulfaméthoxazole est souvent initiée, permettant également la prévention de la pneumocystose (19).

5. Les règles hygiéno-diététiques

Si les donneurs et receveurs sont séronégatifs, le seul risque est celui de la contamination par ingestion de kystes. La prévention repose sur des conseils hygiéno-diététiques (20) que sont :

- Se laver les mains après avoir manipulé de la viande crue ou des crudités souillées par la terre.
- Porter des gants pour jardiner ou pour tout contact avec la terre et se laver les mains.
- Faire laver chaque jour, par une autre personne, le bac à litière du chat, avec de l'eau bouillante, ou porter des gants.
- Bien cuire tout type de viande (température au cœur entre 68°C et 72°C).
- Lors de la préparation des repas, laver à grande eau les légumes et plantes aromatiques, surtout s'ils sont terreux et consommés crus. Laver également les ustensiles de cuisine et les plans de travail.
- La congélation des denrées d'origines animales, à des températures inférieures à -18 °C permet la destruction des kystes et peut être proposée comme recommandation complémentaire de prévention.

La sérologie toxoplasmose

I. Cinétique des anticorps

Lors d'une primo-infection par *T. gondii*, il y a acquisition d'une immunité humorale et cellulaire permettant de contrôler rapidement l'infection. Les IgM et IgA sont les premiers anticorps synthétisés, ils apparaissent dans la semaine suivant l'infection et atteignent un plateau en un mois. Les IgM diminuent progressivement en un à six mois jusqu'à devenir indétectables. Certains individus peuvent garder un taux IgM détectable pendant plusieurs mois voir pendant plusieurs années, compliquant l'interprétation sérologique. Les IgA ne sont pas toujours présentes, elles diminuent plus rapidement que les IgM, puis deviennent indétectables. Les IgG apparaissent deux à trois semaines après les IgM, atteignant un plateau en deux à trois mois. Elles diminuent progressivement puis persistent à titre résiduel tout au long de la vie. Elles signent l'infection à *T. gondii*.

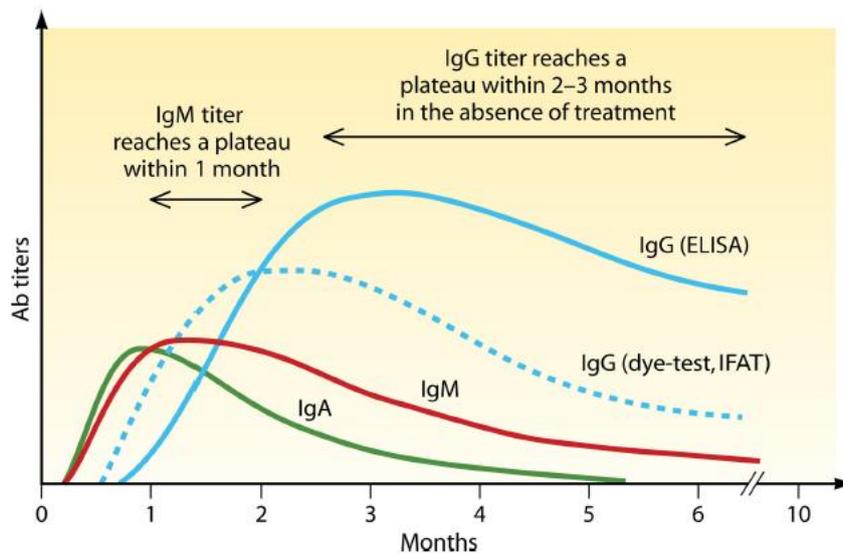


Figure 4 : Cinétique des anticorps (2)

II. Techniques sérologiques

Les différentes techniques sérologiques utilisent soit des antigènes figurés, c'est-à-dire des antigènes de surface (*T. gondii* entier, vivant ou fixé), soit des antigènes solubles qui proviennent de tachyzoïtes lysés ou des antigènes solubles recombinants.

Il existe de nombreux antigènes :

- Antigènes membranaires (SAG) : P30 (SAG1), P22 (SAG 2), SAG3, SAG4 ;

- Antigènes des granules denses (GRA) : P24 (GRA1), P28 (GRA2), P41 (GRA4), P35 (GRA8), GRA7 ;
- Antigènes des rhoptries (ROP) : P66 (ROP1), P54 (ROP2) (21) ;
- Antigènes des micronèmes (MIC).

Ces antigènes ne sont pas retrouvés en proportion égale et pas à tous les stades de l'infection. En effet, SAG1 est l'antigène immunodominant, représentant 5 % du poids du tachyzoïte et a peu de réactions croisées avec les autres antigènes (22). SAG2 et SAG3 sont spécifiques du tachyzoïte alors que SAG4 est spécifique du bradyzoïte. GRA1 est mis en évidence lors d'infections chroniques, alors que GRA2 et GRA7 sont retrouvés dans les infections aiguës (21,22,24).

Lors d'une primo-infection, les anticorps produits vont être dirigés contre les antigènes de surface (SAG), les anticorps dirigés contre les antigènes cytoplasmiques (GRA, ROP...) apparaissent plus tard. Les techniques utilisant des antigènes membranaires seront positives plus rapidement que les techniques utilisant des antigènes cytoplasmiques.

Les différences de sensibilités et spécificités des techniques sérologiques sont dues aux compositions différentes en antigènes et aux techniques de préparations des antigènes. Les techniques utilisant des tachyzoïtes lysés sont difficiles à standardiser. Les méthodes de préparations peuvent être contaminées par du matériel non parasitaire provenant du milieu de culture ou des cellules eucaryotes pouvant entraîner une variabilité entre les techniques. L'utilisation d'antigènes recombinants permet une meilleure standardisation des méthodes et une diminution des coûts de production. Ces méthodes, par le choix des antigènes utilisés, peuvent permettre de faire la différence entre infection aiguë et chronique. Lors de la fabrication des antigènes recombinants, les différentes stratégies de clonages et de purification protéique des fournisseurs peuvent entraîner des sensibilités et des spécificités variables selon les tests. De plus, il est parfois difficile d'obtenir l'antigène selon le même repliement que l'antigène naturel, limitant la détection optimale des anticorps (26).

A. Le Dye Test

C'est la première méthode décrite pour le sérodiagnostic de la toxoplasmose, mise au point par Sabin et Feldman en 1948 (27). Son principe repose sur la lyse du *T. gondii* entier vivant par des anticorps spécifiques contenus dans le sérum du patient, en présence de complément humain. C'est la méthode de référence pour le diagnostic sérologique de la toxoplas-

mose, elle permet de détecter l'ensemble des immunoglobulines spécifiques de façon précoce. Cette technique n'est plus réalisée en routine mais seulement dans quelques laboratoires référents (26).

B. Le Western blot

C'est un test qualitatif de diagnostic sérologique IgG de *T. gondii*, utilisé en deuxième intention comme test de confirmation d'un résultat équivoque. Les antigènes de *T. gondii* après séparation électrophorétique sont fixés par électro-transfert à la surface d'une bandelette de nitro-cellulose. Le Western blot (WB) LDBio Toxo II IgG® est une bonne alternative pour les laboratoires n'utilisant pas le Dye Test. Dans une étude (29) comparant ces 2 méthodes et des tests immunoenzymatiques, il a été montré que le Western blot a une spécificité de 100 % et une sensibilité de 99,2 % et ces résultats ont une excellente concordance avec le Dye Test.

C. Immunofluorescence indirecte (IFI)

Cette technique utilise des tachyzoïtes fixés sur lame de verre auxquels on ajoute des dilutions de sérums patients à tester. La révélation s'effectue par une anti-immunoglobuline G ou M couplée à un marqueur fluorescent. La lecture se fait grâce à un microscope à fluorescence. Le titre en IgG du sérum est obtenu par la dernière dilution positive, la positivité étant définie par une fluorescence homogène du tachyzoïte. Le résultat est rendu en UI/mL. C'est une technique sensible, spécifique et peu coûteuse, mais progressivement abandonnée car elle requière un microscope à fluorescence, du temps et des compétences techniques (variabilité inter-lecteur importante).

D. Techniques d'agglutination

Ce sont des techniques qualitatives de screening ou de confirmation car elles détectent à la fois les IgG et les IgM, mais elles ne peuvent pas être utilisées seules car la législation française impose, pour les IgM et IgG, une détermination du titre. Certaines méthodes après l'ajout de 2-mercaptoethanol, qui permet d'éliminer les IgM du sérum, vont détecter uniquement les IgG mais ne peuvent pas mettre en évidence les infections récentes (30). Ce sont des techniques faciles à mettre en place, peu coûteuses et ne nécessitant aucun équipement.

D'après une étude (30), il semble que les tests d'agglutinations directes et ceux d'hémagglutination sont plus performants que les tests d'agglutinations indirects utilisant des particules de latex, notamment pour les taux de faux positifs.

E. Tests immunoenzymatiques

Ce sont des techniques quantitatives permettant de rendre des résultats en UI/mL, elles sont fiables, rapides et reproductibles. Ces tests sont, majoritairement, utilisés en routine pour le dépistage de la toxoplasmose, car ils sont automatisés et faciles à mettre en place. En effet, en 2006, l'Afssaps a réalisé un sondage auprès des laboratoires Français (2 898 au total) pour connaître les réactifs utilisés pour le dépistage des IgG et IgM anti-*T. gondii*. Cette enquête (20) a montré que 79,8 % des laboratoires utilisent une technique immunoenzymatique pour les IgG et 92,7 % pour les IgM ; les techniques Vidas de Biomérieux et AxSYM d'Abbott étaient majoritaires avec respectivement 42 et 32 % d'utilisateurs.

Selon les trousse, la technique n'est pas la même. Il existe, au moins, cinq principes différents :

- ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) indirect dit « classique » ;
- ELFA (Enzyme Linked Fluorescence Assay) ;
- CLIA (ChemiLuminescence Immuno Assay) = CMIA (Chemiluminescent Microparticle Immuno Assay) ;
- ECLIA (ElectroChemiLuminescence Immuno Assay).

Excepté pour l'ECLIA, le principe est le même pour tous. Sur une phase solide, des antigènes de *T. gondii* (tachyzoïtes lysés ou recombinants) sont fixés, le sérum du patient puis un conjugué constitué d'un anticorps anti-immunoglobuline marqué sont ajoutés. La révélation par un substrat, après interaction spécifique avec le conjugué, entraîne la formation d'un signal. Ce signal peut être un produit coloré (exprimé en DO et mesuré par un spectrophotométrie lors d'une ELISA), un produit fluorescent (mesuré par un fluorimétrie lors d'une ELFA) ou un signal lumineux par réaction de chimiluminescence (exprimé en URL et mesuré par un photomultiplicateur lors d'une CLIA ou d'une CMIA). Ce signal est proportionnel à la quantité d'anticorps spécifiques retenue sur le support solide. Par comparaison à une gamme étalon (calibration) établie à partir d'un sérum standard international (IS) de l'OMS, ce signal est converti en UI/mL. Ces tests permettent une détection et un titrage spécifique des IgG et IgM. Peu de tests sont commercialisés pour la détection des IgA.

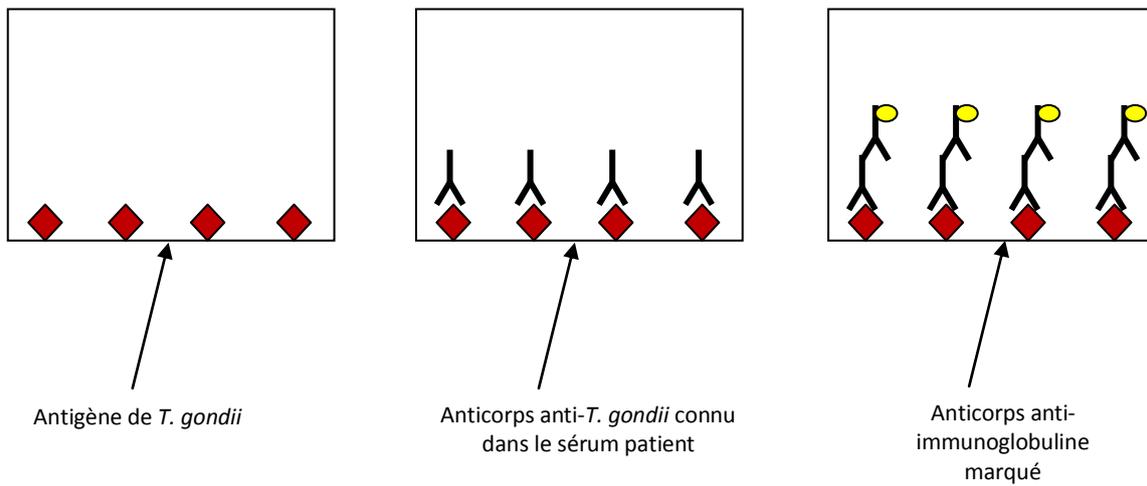


Figure 5 : ELISA indirecte

L'ECLIA associe un dosage immunologique en double antigène sandwich, l'ajout à postériori de la phase solide marquée (non cotée par des antigènes de *T. gondii*) à une détection finale par électrochimiluminescence.

Evaluation de sept réactifs commercialisés

I. Contexte

Chez les patients immunodéprimés, l'infection aiguë récemment acquise ou, le plus fréquemment, la réactivation de kystes tissulaires, peut entraîner une toxoplasmose grave et une issue fatale si elle n'est pas correctement traitée (31). Ces patients sont généralement testés pour la présence d'anticorps IgG contre *T. gondii*. En cas de résultat positif, ou d'association d'un résultat négatif chez le receveur à un résultat positif chez le donneur, un traitement prophylactique anti-toxoplasmose est prescrit afin d'éviter une infection ou une réactivation sévère (32,33). Le dépistage de la toxoplasmose est parfois effectué alors que les patients sont déjà immunodéprimés et présentent un titre d'IgG faible, voire indétectable, par des tests automatisés de routine. Les tests immuno-enzymatiques sont les plus couramment utilisés. Ces tests sont utilisés pour le diagnostic de toxoplasmose dans la population générale mais surtout chez les populations à risques : les femmes enceintes et les immunodéprimés. La plupart des fabricants privilégient la spécificité à la sensibilité pour avoir un nombre de faux positifs très faible et éviter qu'une femme enceinte soit considérée comme séropositive à tort et ne bénéficie pas du suivi mensuel pendant sa grossesse. Pour les patients immunodéprimés, il est important d'avoir un test sérologique très sensible pour les IgG permettant de ne pas rendre une sérologie négative alors que le patient est séropositif avec un taux d'IgG très faible. Quelle que soit la technique utilisée, les résultats sont souvent équivoques lorsque les concentrations d'IgG sont proches de la valeur seuil de l'automate. Dans ces situations, il est recommandé de faire une 2^{ème} technique même si dans la plupart des cas, le statut immunitaire du patient reste douteux. Un test de confirmation est alors nécessaire afin de déterminer sans ambiguïté le statut sérologique du patient (34). L'objectif de notre étude est d'évaluer la sensibilité et la spécificité de différents automates pour la détection des IgG anti-*T. gondii* chez les patients présentant des taux faibles d'anticorps et de proposer de nouveaux seuils de dépistage en fonction de la technique utilisée.

II. Matériel et méthode

A. Population étudiée

Les sérums provenant de patients hospitalisés dans les services d'Unité de Transplantation d'Organe et d'Hématologie ont été recueillis du 1^{er} janvier au 31 décembre 2016. Ces sérums ont été sélectionnés à partir des résultats de la sérologie réalisée sur l'Architect afin de ne retenir que les taux faibles en IgG ou négatifs par les techniques de routine (taux d'IgG < 3 UI/mL sur l'Architect). Seuls les patients ayant un résultat négatif pour la recherche d'IgM ont été inclus. Si plusieurs sérologies *T. gondii* étaient demandées pour le même patient, seul un sérum était inclus. Les échantillons sélectionnés ont été congelés à -20 °C.

B. Réactifs utilisés

Les sérums ont été testés en première intention avec l'Architect Toxo IgG[®] et Architect Toxo IgM[®] sur l'automate Architect i2000 (Abbott Laboratories, Wiesbaden, Germany), technique de dépistage de routine du service de Parasitologie-Mycologie du CHU de Toulouse.

Les réactifs suivants ont été testés sur cette cohorte de patients :

- **Elecsys** : Elecsys Toxo IgG[®] sur l'automate Cobas 8000 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) ;
- **Platelia** : Platelia Toxo IgG test[®] sur l'automate Evolis (BioRad, Marnes La Coquette, France) ;
- **Access II** : Access Toxo IgG II[®] sur l'automate l'Access (Beckman Coulter Inc) ;
- **TGA TA** : TGS TA Toxo IgG[®] assays (TGS Technogenetics, Milano, Italy) sur l'automate IDS-iSYS (Immunodiagnostic Systems, Boldon, UK).
- **Vidas II** : Vidas Toxo IgG II[®] sur l'automate Mini-Vidas (BioMérieux, Marcy l'Étoile, France) ;
- **Liaison II** : Liaison Toxo IgG II[®] sur l'automate Liaison XL (DiaSorin, Saluggia, Italy) ;
- **LDBio II** : LDBio-Toxo II IgG[®], test de référence, pour confirmer ou non la présence d'IgG spécifiques.

Ces tests ont été réalisés rétrospectivement de Janvier 2017 à Décembre 2017, selon les instructions des fabricants. Les seuils utilisés pour l'interprétation des résultats sont ceux recommandés par les fabricants (Tableau II). Tous les résultats des tests sont rendus en

IU/mL sauf pour le LDBio II qui est un test qualitatif pour lequel le résultat sera positif ou négatif.

Tableau II : Seuils fournisseurs des différents automates étudiés

Tests	Calibration	Négatif	Zone grise	Positif
Elecsys	3 ^{ème} sérum IS de l’OMS	< 1	$1 \leq x < 30$	≥ 30
Architect	1 ^{er} étalon standard IgG (01/600)	< 1,6	$1,6 \leq x < 3$	≥ 3
Platelia	3 ^{ème} sérum IS de l’OMS	< 6	$6 \leq x < 9$	≥ 9
Access II	3 ^{ème} sérum IS de l’OMS	< 7,5	$7,5 \leq x < 10,5$	$\geq 10,5$
TGS TA	Inconnue	< 1,5		$\geq 1,5$
Vidas II	2 ^{ème} sérum IS de l’OMS	< 4	$4 \leq x < 8$	≥ 8
Liaison II	2 ^{ème} sérum IS de l’OMS	< 7,2	$7,2 \leq x < 8,8$	$\geq 8,8$
LDBio II	NA	Moins de 3 bandes		Au moins 3 bandes dont la p30

1. Elecsys Toxo IgG®

Lors de la 1^{ère} incubation, le sérum du patient est mis en contact avec des antigènes recombinants de surface SAG1 marqués au ruthénium et des antigènes recombinants biotinylés. Un sandwich entre les IgG du patient et les deux types d’antigènes se forme. Après ajout de microparticules coatées par la streptavidine, le complexe immunitaire est fixé à la phase solide par une liaison streptavidine-biotine. Il y a, alors, capture magnétique des microparticules au niveau de l’électrode, avec élimination des substances non liées. Une différence de potentiel est appliquée à l’électrode entraînant la production de luminescence qui est mesurée. La calibration est effectuée selon le 3^{ème} sérum IS de l’OMS (35).

2. Architect Toxo IgG®

Les antigènes toxoplasmiques recombinants, membranaire SAG1 et cytoplasmique GRA8, sont fixés sur des microparticules paramagnétiques. Les anticorps présents dans le sérum se lient à l’antigène, formant un complexe anticorps-antigène. Après lavage puis ajout d’un anticorps murin anti-IgG humain conjugué à l’acridinium, la chimiluminescence résultante est mesurée par le système optique ARCHITECT iSystem. Il n’y a pas de précision concernant la calibration sur la notice (22). Des tests effectués dans le service ainsi qu’une publication (26) montre que la calibration a été probablement établie à l’aide du 1^{er} étalon standard IgG (01/600).

3. *Platelia Toxo IgG*[®]

La phase solide est constituée d'une microplaque sensibilisée par des antigènes solubles de *T. gondii* vivants inactivés. Après dilution, le sérum du patient est déposé dans les cupules. Après incubation, un lavage permet d'éliminer les IgG non spécifiques. Le conjugué constitué d'un anticorps anti-IgG marqué à la peroxydase est ajouté. Après incubation et lavage, la solution de révélation enzymatique est ajoutée, puis la réaction enzymatique est stoppée par addition d'une solution d'acide sulfurique. La densité optique, convertie en IU/mL après calibration selon le 3^{ème} sérum IS de l'OMS (TOX-M), est proportionnelle à la quantité d'IgG anti-*T. gondii* présente dans l'échantillon.

4. *Access Toxo IgG II*[®]

Des antigènes membranaires de *T. gondii* sont fixés sur des particules paramagnétiques. Après ajout du sérum du patient, les anticorps spécifiques présents dans l'échantillon se lient à l'antigène. Après incubation, le matériel lié à la phase solide est capté par le champ magnétique, un lavage permet d'éliminer les IgG non spécifiques. Des anticorps anti-IgG humain conjugués à une phosphatase alcaline sont ajoutés et se lient au IgG capturés sur les particules. Après lavage, le substrat Lumi-Phos 530 est ajouté et permet la mesure de la chimiluminescence. La calibration est effectuée selon le 3^{ème} sérum IS de l'OMS (36).

5. *TGS TA Toxo IgG*[®]

La technique utilise des antigènes solubles de *T. gondii* vivants purifiés coatés sur des micro-particules. L'anticorps anti-IgG humain est conjugué avec un dérivé d'ester d'acridinium. Lors de la 1^{ère} incubation, les anticorps du sérum se lient aux antigènes de la phase solide. Pendant la 2nd phase d'incubation, les réactifs conjugués avec anticorps anti-IgG toxo sont capturés par la phase solide, la quantité de conjugué marqué qui reste liée à la phase solide est activée et émet une chimiluminescence (37). Il n'y a pas de précision concernant la calibration sur la notice.

6. *Vidas Toxo IgG II*[®]

Le principe du dosage associe la méthode immunoenzymatique en sandwich en deux étapes à une détection finale en fluorescence ELFA. Les cônes constituant la phase solide sont sensibilisés par des antigènes solubles de *T. gondii* vivants inactivés. Le conjugué est un anticorps monoclonal anti-P30 marqué par la phosphatase alcaline, il entre en compétition avec

les anticorps du sérum fixés à la phase solide. Le substrat, le 4-méthyl-ombelliferyl phosphate, est hydrolysé en un produit fluorescent. Le signal de fluorescence est mesuré par un fluorimètre, sa valeur est inversement proportionnelle à la quantité d'IgG présente dans l'échantillon. La calibration est effectuée à partir du 2^{ème} sérum IS de l'OMS.

7. Liaison Toxo IgG II®

Des antigènes solubles de *T. gondii* vivants inactivés sont fixés sur des microparticules magnétiques (phase solide). Après ajout du sérum du patient, les anticorps présents dans le sérum se lient à la phase solide. Dans un deuxième temps, un anticorps monoclonal couplé à un dérivé de l'isoluminol est ajouté et réagit avec les anticorps du patient. La réaction de chimiluminescence débute et le signal lumineux qui en résulte est mesuré par un photomultiplicateur. La calibration est effectuée à partir du 2^{ème} sérum IS de l'OMS.

8. LDBio-Toxo II IgG®

C'est le test de référence qui permet de classer les patients en deux groupes : immunisés / non immunisés. Lors du test, chaque sérum va être incubé séparément avec une bandelette dans un puit, les anticorps présents dans le sérum se fixent sur les antigènes. Après incubation avec un conjugué anti-IgG humaine, l'ajout du substrat permet de révéler la présence d'IgG anti-*T. gondii*, par l'apparition de bandes spécifiques colorées dans la zone 30-45 kDa : 30, 31, 33, 40, 45 kDa. La lecture du résultat se fait par comparaison avec un contrôle positif. Un résultat sera considéré comme positif si au moins 3 bandes, incluant la bande 30 kDa, parmi les cinq spécifiques, sont présentes (29).

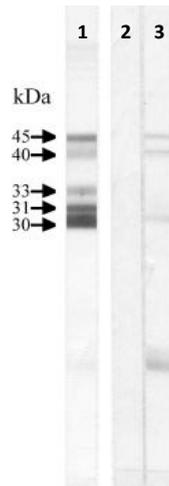


Figure 6 : Illustration de Western Blot.
Profil 1 : Contrôle positif.
Profil 2 : Sérum négatif.
Profil 3 : Sérum positif (30, 40, 45 kDa)

C. Analyse statistique

Les caractéristiques de la population étudiée ont été décrites en utilisant les pourcentages et la médiane avec intervalles interquartile (IQR) au vu des distributions non-gaussiennes. Les tests de dépistage ont été évalués par rapport au test de confirmation (Western-blot). Un calcul de sensibilité et de spécificité a été réalisé sur tous les sérums inclus dans l'étude. Les résultats de sensibilité et spécificité ont été comparés en utilisant un test d'égalité des proportions. L'analyse des résultats a été faite à l'aide de courbes ROC (Receiving Operating Characteristic) afin de déterminer pour chaque test quel(s) seuil(s) serai(en)t le(s) plus adapté(s) pour le dépistage des patients immunodéprimés ayant des taux faibles d'IgG. Les aires sous la courbe ont été comparées par un test du χ^2 . Le seuil de significativité était fixé à 5 %. Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel : Intercooled Stata 9.2 statistical package (StataCorp, College Station, TX)

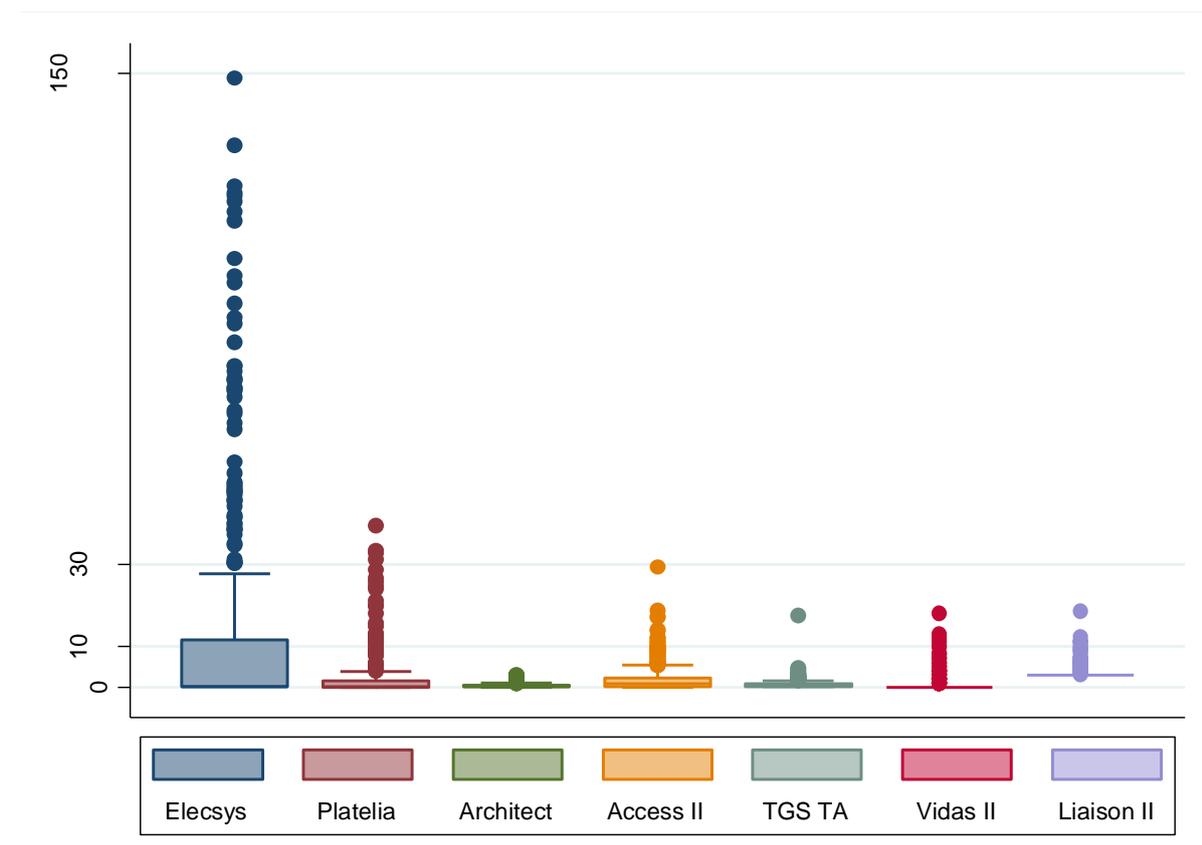
III. Résultats

A. Patients et sérums

En 2016, 367 sérums avec des résultats négatifs ou douteux sur l'Architect, provenant de patients hospitalisés dans le service de transplantés d'organes solides et le service d'hématologie ont été inclus. Ces sérums provenaient de 367 patients différents avec 44,9 % des sérums prélevés chez des femmes et 55,1 % chez des hommes.

L'âge médian était de 39 ans (IQR [22-56]). Tous les sérums ont été dosés avec Architect, TGS TA et Liaison II, 366 sérums dosés avec Platelia et le Vidas II, 365 avec Access II, 356 avec le ELECSYS, et 367 avec le LDBio II.

Pour le reste de notre étude, 354 sérums ont été retenus, correspondant aux sérums testés avec toutes les techniques. Treize échantillons n'ont pu être inclus du fait d'un volume insuffisant de sérum empêchant la réalisation de la sérologie avec les huit méthodes.



Médiane	0,13	0,22	0,1	0,86	0,4	0	<3
IQR	[0,13-11,5]	[0,02-1,59]	[0,1-0,5]	[0,19-2,32]	[0,2-0,8]	[0-0]	[<3-<3]
Min / Max	0,13 / 148,8	0 / 33,28	0 / 2,9	0 / 29,39	0,1 / 17,6	0 / 18	<3 / 18,6

Figure 7 : Répartition des valeurs des dosages en fonction des techniques

La figure 7 montre la répartition des taux d'IgG en fonction de l'automate utilisé. Les valeurs maximales d'IgG varient fortement en fonction de l'automate utilisé, allant de 2,9 UI/mL pour Architect, résultat dans la zone grise, à 148,8 UI/mL pour Elecsys, résultat positif. Ceci montre le manque de standardisation entre les techniques.

B. Sensibilité et spécificité aux seuils préconisés par le fournisseur

Aux seuils fabricants, un résultat concordant pour les huit techniques utilisées a été trouvé pour 225 sérums, ce sont uniquement des sérums négatifs, soit un taux de concordance de 63,6 % (225/354). Ce taux faible de concordance peut être expliqué par un nombre de sérums positifs plus important avec le Western blot, 23,2 %, qu'avec les autres réactifs, notamment Architect, Liaison II, Vidas II et Access II qui ont un taux de sérums positifs respectif de 0 ; 2,5 ; 2,8 et 3,4 %. Comme le montre le Tableau III, les résultats rendus douteux par l'automate, sont confirmés positifs par le WB dans 100 % des cas pour Architect, Platelia, Vidas II et Liaison II. Un seul WB est négatif pour Access II, alors qu'Elecsys a 37,3 % de ses résultats douteux, positifs en WB.

Tableau III : Nombre de négatifs, douteux et positifs pour chaque technique (nombre de LDBio II positifs pour chaque cas, N=82)

Tests	Négatif (LDBio II+)	Douteux (LDBio II+)	Positif (LDBio II+)
Elecsys	233 (0)	59 (22)	62 (60)
Architect	318 (46)	36 (36)	NA
Platelia	324 (52)	3 (3)	27 (27)
Access II	325 (55)	17 (16)	12 (11)
TGS TA	307 (44)	NA	47 (38)
Vidas II	323 (51)	21 (21)	10 (10)
Liaison XL	343 (71)	2 (2)	9 (9)

Dans le tableau IV, la spécificité, la sensibilité, la valeur prédictive positive (VPP) et la valeur prédictive négative (VPN) ont été évaluées pour chaque automate en prenant une séroprévalence de la toxoplasmose dans la population de 36,7 % (9). Dans un premier temps, les valeurs dans la zone grise ont été considérées comme des valeurs positives, puis les valeurs dans la zone grise ont été incluses dans les valeurs négatives. Pour TGS TA qui ne possède pas de zone grise, il n'y a donc pas de modification des résultats. Pour Architect, les échantillons ayant été sélectionnés pour être négatifs ou dans la zone grise, le calcul des différentes valeurs considérant les sérums en zone grise comme sérums négatifs n'a pu être effectué.

Tableau IV : Sensibilité, spécificité, VPP, VPN de chaque réactif, prévalence de 36,7 %

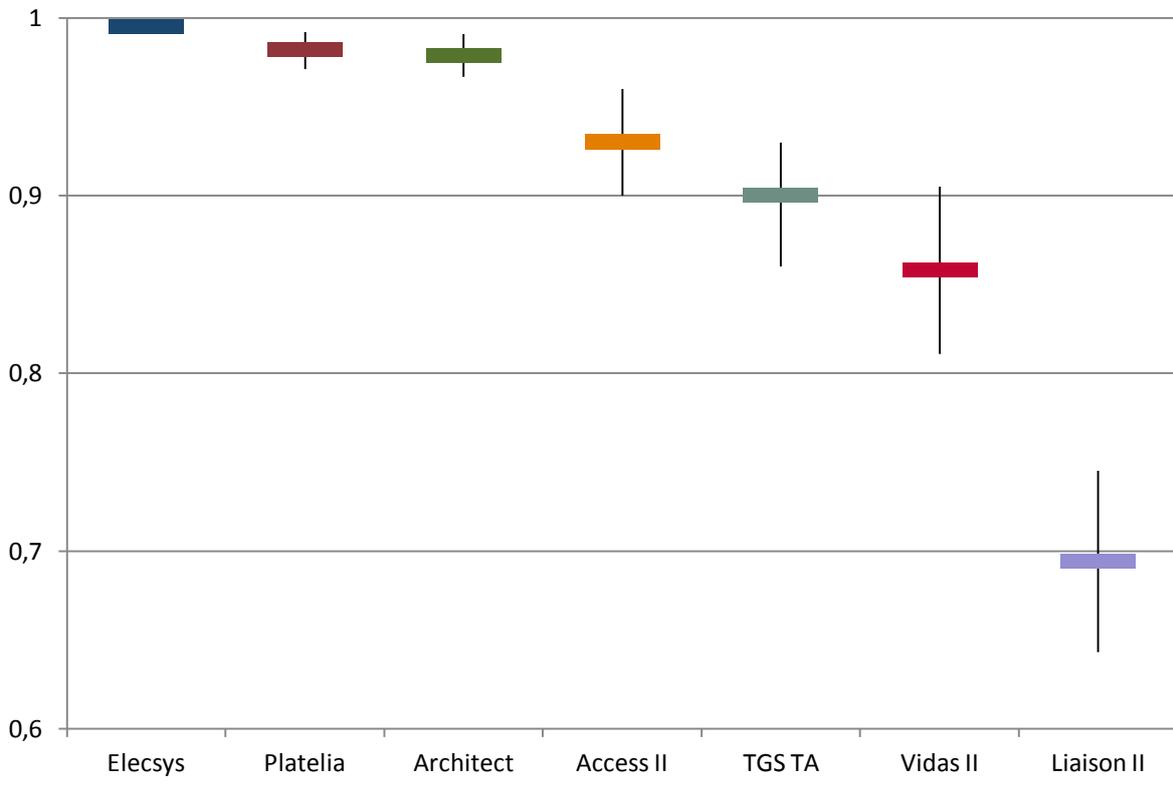
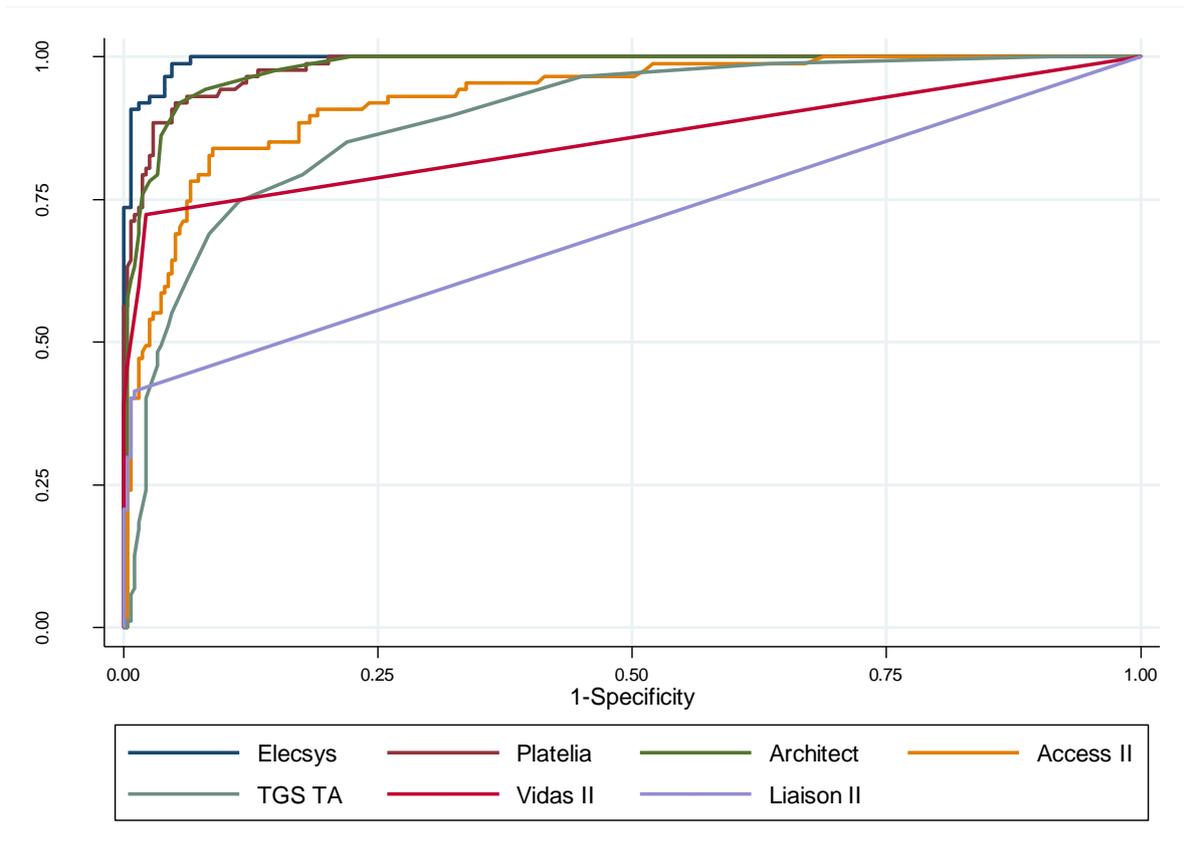
	Sensibilité % [IC _{95%}]	Spécificité % [IC _{95%}]	VPP %	VPN %
Elecsys				
Positive	100 [100-100]	85,7 [82,0-89,3]	80,2	100
Négative	73,2 [68,7-77,8]	99,3 [98,4-100]	98,3	86,4
Architect				
Positive	43,9 [38,7-49,1]	100 [100-100]	100	75,5
Platelia				
Positive	36,6 [31,6-41,6]	100 [100-100]	100	73,1
Négative	32,9 [28,0-37,8]	100 [100-100]	100	72,0
Access II				
Positive	32,9 [28,0-37,8]	99,3 [28,4-100]	96,3	71,8
Négative	13,4 [9,7-17,0]	99,6 [99-100]	95,5	66,5
TGS TA				
Positive/Négative	46,3 [41,1-51,5]	96,7 [94,8-98,6]	89,0	75,7
Vidas II				
Positive	37,8 [32,7-42,9]	100 [100-100]	100	73,5
Négative	12,2 [8,8-15,6]	100 [100-100]	100	66,3
Liaison II				
Positive	13,4 [9,7-17,0]	100 [100-100]	100	68,6
Négative	11,0 [7,7-14,2]	100 [100-100]	100	66,0

La spécificité de Elecsys est significativement augmentée ($p < 0,001$) lorsque les valeurs de la zone grise sont incluses dans les valeurs négatives et sa sensibilité significativement augmentée lorsque les résultats douteux sont considérés positifs ($p < 0,001$). Platelia, Architect, Vidas II, Liaison II et Access II ont une spécificité excellente de 100 % quel que soit le choix fait pour les résultats douteux. Pour Access II et Vidas II, la sensibilité du test est significativement augmentée lorsque les résultats douteux sont considérés positifs ($p < 0,001$). Pour Platelia et Liaison II, la sensibilité du test n'est pas différente en fonction du choix fait pour les résultats douteux ($p > 0,8$).

C. Performance analytique et adaptation des seuils

1. Aire sous la courbe

L'aire sous la courbe (AUC) permet d'évaluer l'intérêt diagnostique d'un test. On distingue les tests d'apport nul ($AUC < 0,5$), peu informatifs ($0,5 \leq AUC < 0,7$), moyennement informatifs ($0,7 \leq AUC < 0,9$), très informatifs ($0,9 \leq AUC < 1$) et parfaits ($AUC = 1$) (38). Plus l'aire sous la courbe est importante, plus le test est performant.



	Elecsys	Platelia	Architect	Access II	TGS TA	Vidas II	Liaison II
AUC	0,995	0,982	0,979	0,930	0,900	0,858	0,694
IC_{95%}	[0,991-0,999]	[0,971-0,992]	[0,967-0,991]	[0,900-0,960]	[0,860-0,930]	[0,811-0,905]	[0,643-0,745]
p	0,005	0,545	Ref	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Figure 8 : Aires sous la courbe ROC

Cinq des sept automates testés sont très informatifs. Comme le montre la Figure 8, Elecsys a la plus grande AUC et celle-ci est significativement supérieure à celle de Architect, notre automate de référence. Les performances de Platelia ne sont pas différentes de celles de l'Architect. Les réactifs Access II et TGS TA, bien qu'acceptables, montrent des performances significativement inférieures à celle de Architect. Vidas II et Liaison II sont respectivement moyennement et peu informatifs dans la population étudiée.

2. Choix des seuils

La discordance observée entre les bonnes performances analytiques (courbes ROC, Figure 9) et les valeurs de sensibilité et spécificité exposées dans le tableau IV est due au choix des valeurs seuils. Les tableaux Va et Vb présentent, pour Architect et Platelia, les différents seuils qu'il serait possible d'appliquer à la population de l'étude afin d'améliorer les sensibilités et spécificités diagnostiques et ainsi d'augmenter le nombre de patients correctement classés. Pour Elecsys (tableau VI), nous proposons de « resserrer » la zone grise afin de garder la même sensibilité mais d'améliorer la spécificité du test. Les valeurs proches des seuils fournisseurs sont représentées en **gras**, les seuils proposés sont **surlignés**. Pour les autres réactifs (tableaux VIIa, VIIb, VIIIa et VIIIb), aucune valeur seuil n'a pu être proposée, de façon à être à la fois sensible et suffisamment spécifique pour ne pas avoir à effectuer un trop grand nombre de test de confirmation.

Tableau Va et Tableau Vb : Sensibilités et spécificités d'Architect et de Platelia en fonction du seuil

Architect (Seuil)	Sensibilité	Spécificité	Platelia (Seuil)	Sensibilité	Spécificité
0,00	100,00 %	0,00 %	0,00	100,00 %	0,00 %
0,30	97,56 %	85,29 %	0,53	98,78 %	79,78 %
0,40	93,90 %	92,28 %	1,02	95,12 %	88,24 %
0,50	91,46 %	94,85 %	1,58	91,46 %	94,85 %
0,90	74,39 %	98,53 %	2,43	78,05 %	98,16 %
1,00	69,51 %	98,90 %	4,76	53,66 %	100,00 %
1,40	54,88 %	100,00 %	5,90	37,80 %	100,00 %
1,60	43,90 %	100,00 %	9,09	32,93 %	100,00 %

Tableau VI : Sensibilité et spécificité de Roche en fonction du seuil

Roche (seuil)	Sensibilité	Spécificité
0,13	100,00 %	0,00 %
1,12	100,00 %	85,66 %
6,70	100,00 %	93,38 %
9,43	98,78 %	95,22 %
20,51	90,24 %	99,26 %
30,13	73,17 %	99,26 %
30,57	71,95 %	100,00 %

Tableau VIIa et VIIb : Sensibilités et spécificités d'Access II et de TGS TA en fonction du seuil

Access II (seuil)	Sensibilité	Spécificité	TGS TA (seuil)	Sensibilité	Spécificité
0,00	100,00 %	0,00 %	0,10	100,00 %	0,00 %
0,43	98,78 %	48,16 %	0,30	98,78 %	36,76 %
0,90	95,12 %	66,54 %	0,40	96,34 %	55,15 %
1,40	90,24 %	80,88 %	0,50	89,02 %	68,01 %
2,09	82,93 %	90,07 %	0,90	67,07 %	91,54 %
3,81	62,20 %	95,22 %	1,10	54,88 %	95,22 %
7,55	32,93 %	99,26 %	1,50	46,34 %	96,69 %
10,65	13,41 %	99,63 %			

Tableau VIIIa et VIIIb : Sensibilités et spécificités de Liaison XL et de Vidas II en fonction du seuil

Liaison XL (seuil)	Sensibilité	Spécificité	Vidas II (seuil)	Sensibilité	Spécificité
< 3,00	100,00 %	0,00 %	0	100,00 %	0,00 %
3,00	42,68 %	98,90 %	1	71,95 %	97,79 %
6,14	21,95 %	100,00 %	4	37,80 %	100,00 %
7,17	14,63 %	100,00 %	8	12,20 %	100,00 %
8,89	10,98 %	100,00 %			

Pour le Liaison, 89 % des valeurs sont rendues <3 UI/ml ; <3 UI/ml étant la plus petite valeur rendue par cette automate. Pour le Vidas, 82 % des valeurs sont rendues à 0 UI/ml. Cet automate ne rend que des résultats entiers (0, 1, 2,...).

D. Sensibilités et spécificités aux nouveaux seuils

Pour Architect avec les anciens seuils, 46 sérums auraient été rendus faussement négatifs (Tableau III). Un WB aurait été réalisé sur les 36 sérologies douteuses, tous auraient été positifs. Avec les nouveaux seuils (Tableau IX), seulement deux sérums auraient été rendus faussement négatifs. Un WB serait réalisé sur 75 sérologies douteuses, dont 35 seraient positifs. Pour Platelia, les constatations sont semblables, le nombre de faux négatifs passe de 52 à quatre avec les nouveaux seuils. A la place de trois WB qui avaient été rendus positifs, 66 devront être réalisés dont 34 seront positifs. Ce changement de seuil permet d'avoir une sensibilité très bonne et d'augmenter la VPN, mais entraîne une augmentation du nombre de WB à réaliser. Cependant la zone grise étant mieux définie, ces derniers sont faits de façon plus optimale.

La concordance entre les trois automates pour lesquels les seuils ont été modifiés et le WB est de 71,8 % (254/354), significativement améliorée par rapport aux anciens seuils (64,1 %, p=0,014).

Tableau IX : Nombre de sérums négatifs, douteux et positifs pour Architect, Platelia et Roche avec les nouveaux seuils (nombre de LDBio II positifs pour chaque cas, N=82)

Tests	Négatif (LDBio II+)	Douteux (LDBio II+)	Positif (LDBio II+)
Elecsys	254 (0)	24 (8)	76 (74)
Architect	234 (2)	75 (35)	45 (45)
Platelia	244 (4)	66 (34)	44 (44)

Pour Elecsys, la problématique est différente. En effet la sensibilité est de 100 % avec les anciens seuils, mais en « resserrant » ces seuils, cette sensibilité peut être conservée tout en diminuant le nombre de Western blot à réaliser. En modifiant le seuil d'entrée en zone grise à 6,7 UI/mL, 254 sérums sont négatifs et confirmés par le Western blot, « économisant » 21 WB.

Tableau X : Sensibilité, spécificité, VPP, VPN des réactifs (nouveaux seuils), prévalence de 36,7 %

	Sensibilité % [IC _{95%}]	Spécificité % [IC _{95%}]	VPP	VPN
Elecsys				
Positive ≥ 1,00	100 [100-100]	85,7 [82,0-89,3]	82,3	100
Positive ≥ 6,70	100 [100-100]	93,4 [90,8-96,0]	89,6	100
Architect				
Positive ≥ 1,60	43,9 [38,7-49,1]	100 [100-100]	100	72,8
Positive ≥ 0,30	97,56 [95,9-99,2]	85,29 [81,6-89,0]	79,4	98,4
Platelia				
Positive ≥ 6,00	36,6 [31,6-41,6]	100 [100-100]	100	70,3
Positive ≥ 1,02	93,9 [91,4-96,4]	89,0 [85,7-92,2]	83,1	96,2

Si les sérums douteux sont considérés comme positifs (tableau X), la spécificité d'Elecsys est significativement augmentée ($p < 0,001$) lors de l'augmentation du seuil d'entrée de la zone grise de 1,00 à 6,70 UI/ml. Pour Architect et Platelia, la sensibilité est significativement améliorée lors de la modification du seuil ($p < 0,001$). La spécificité est significativement diminuée ($p < 0,001$).

Les nouveaux seuils permettent donc pour Architect et Platelia de détecter plus de sérums positifs. Pour Elecsys, ils permettent d'avoir une meilleure spécificité, tout en réalisant moins de Western Blot.

E. Profils des Westerns blots

Parmi les 82 WB positifs (Figure 9), 91 % des sérums ont au minimum les bandes 30, 31 et 33. Le profil avec les bandes 30, 31, 33 et 40 est le plus souvent retrouvé.

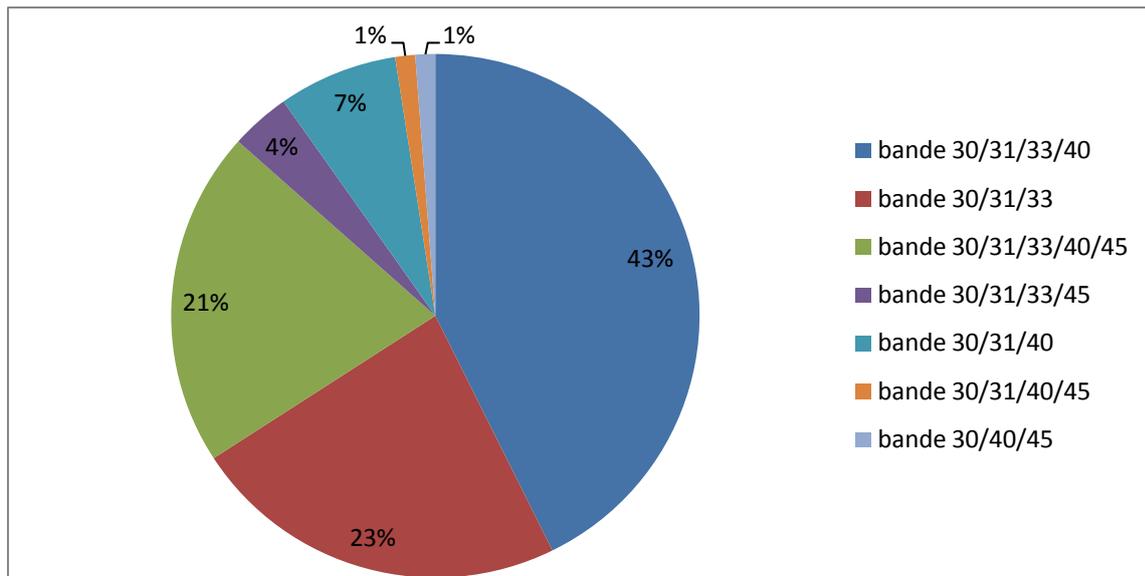


Figure 9 : Profil des Western blots positifs

Parmi les 272 Western blot négatifs (Figure 10), 81 % ne présentaient aucune bande. Le WB rend normalement un résultat binaire, positif ou négatif. La présence de la bande 30 avec moins de deux autres bandes, peut être considéré comme un résultat douteux par certains auteurs (39). Ici, 33 WB rendus négatifs présentent au moins la bande 30, dont 18 ont uniquement la bande 30. Ils pourraient donc être considérés comme « douteux ».

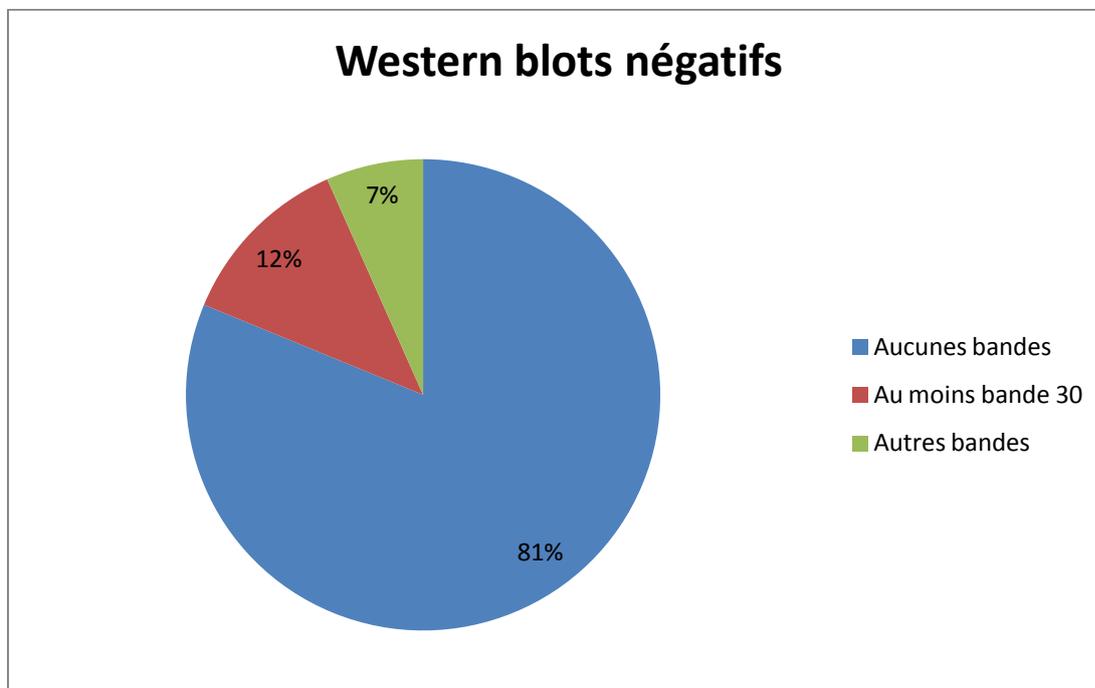


Figure 10 : Profil des Western blots négatifs

Pour Elecsys, les deux sérums faussement positifs (Tableau IX), montre pour l'un la présence d'une bande 30 seule et pour l'autre la présence des bandes 30 et 31, ces sérums ne sont peut être pas des faux positifs.

Tableau XI : Profil du WB pour les sérums dans la zone grise de chaque technique (nouveau seuil)

	Elecsys (N = 24)	Architect (N = 75)	Platelia (N = 66)
Bande 30 = « douteux »	15	19	14
Pas de bande 30	1	21	18
Positif	8	35	34

Pour les sérums rendus douteux avec Elecsys (Tableau XI), 62,5 % peuvent être considérés comme « douteux » avec le WB. Pour les sérums rendus douteux avec Architect ou Platelia, 46,7 % et 51,5 % sont positifs avec le WB. Parmi les sérums restants, 25,3 % et 21,1 % sont « douteux », respectivement pour Architect et Platelia.

IV. Discussion

Cette étude présente une comparaison des capacités analytiques de sept réactifs pour la détection d'IgG anti-*Toxoplasma gondii* à taux faibles dans une large cohorte de patients immunodéprimés, par rapport à un WB de référence.

Pour des centres de diagnostic associés à des services cliniques prenant en charge des patients immunodéprimés, les réactifs Elecsys Toxo IgG® (Elecsys), Architect Toxo IgG® (Architect), Platelia Toxo IgG® (Platelia), Access Toxo IgG II® (Access II) et TGS TA Toxo IgG® (TGS TA) semblent être suffisamment informatifs pour pouvoir être utilisés, en routine, pour le dépistage de la toxoplasmose chez les patients présentant des taux faibles d'IgG. Cependant Elecsys montre une qualité analytique statistiquement supérieure à celles d'Architect ou de Platelia, qui elles-mêmes sont supérieures à celles de Access II et TGS TA. Les réactifs Vidas Toxo IgG II® (Vidas II) et Liaison Toxo IgG II® (Liaison II) présentent de faibles performances analytiques dans cette cohorte. Dans tous les cas, les seuils fournisseurs ne paraissent pas optimaux pour cette population et nécessitent d'être adaptés par l'utilisateur.

Les limites de notre étude sont la sélection de sérums sur Architect pour avoir uniquement des sérums négatifs ou douteux sur cet automate, entraînant un biais notamment sur la sensibilité de cet automate. De plus l'exclusion des sérums positifs de notre groupe de patient immunodéprimés, peut également, artificiellement, diminuer la sensibilité des différents automates et augmenter leur spécificité.

Dans notre étude, une variation importante entre les taux maximums d'IgG est observée. Cette variation entre les taux d'IgG rendus pour un même sérum par des automates différents a été décrite dans deux études (39,40). Que ce soit dans notre étude ou dans la littérature, les taux les plus élevés sont toujours retrouvés avec Elecsys. Ces variations empêchent la comparaison des résultats d'une technique à l'autre. Ces différences de taux peuvent être dues à la composition des solutions antigéniques (26), (antigènes de surface, antigènes solubles, antigènes recombinants). De plus, tous les réactifs ne sont pas calibrés selon le même étalon standard ; Architect est calibré selon le 1^{er} étalon standard IgG (01/600), Liaison II et Vidas II selon le 2^{ème} étalon standard international, Elecsys, Access II et Platelia selon le 3^{ème} étalon standard international. Cela pourrait aussi être un facteur de variabilité, même si dans l'étude de Maudry et al (39), aucune différence significative n'a été montrée. Le 2nd et 3^{ème} étalon standard contiennent des taux importants d'IgG et IgM. La standardisation entre les essais détectant uniquement les IgG, tels que les EIA, et les essais détectant toutes les classes d'anticorps, tels que le DT, est difficile. C'est pourquoi un étalon standard, uniquement pour les IgG a été créé (41). Pour toutes ces raisons, il est conseillé aux patients d'être suivi dans le même laboratoire ou à défaut par la même technique de dépistage.

En présence de taux faibles d'IgG, proche de la limite de détection, souvent rendus comme douteux, la sérologie peut être considérée comme négative. Or, chez les receveurs de cellules souches hématopoïétiques, l'absence d'immunité écarte le risque de réactivation d'une infection ancienne, le patient ne reçoit alors pas de chimioprophylaxie. Notre étude montre bien la limite des automates pour la détection des taux faibles d'IgG. En effet les sensibilités des automates testés sont faibles, même lorsque les valeurs douteuses sont incluses dans les valeurs positives, excepté pour Elecsys. Les patients immunodéprimés ou avec des taux faibles d'IgG, sont souvent peu représentés dans les études analysant et comparant les différents automates sur le marché. Ces études incluent essentiellement des femmes suivies pendant leur grossesse. En fonction des automates et des études, la concordance va de 91,4 à 99,5 %. La sensibilité varie de 95,6 à 100 % et la spécificité de 98,9 à 100 % (22,37,39,40,42–45). Les différences de population entre ces études et la nôtre, pourraient expliquer, les différences de concordance et de sensibilités retrouvées. De plus dans cer-

taines études, les résultats douteux sont exclus des calculs de concordance, de sensibilité et de spécificité. Quelques études se sont intéressées aux taux faibles d'IgG. Une étude (46) a comparé 231 sérums douteux ou négatifs sur Elecsys avec les résultats de Platelia. Pour les résultats discordants entre les deux réactifs le WB LDBio II a été fait. Même si les sérums ne proviennent pas de patients immunodéprimés, les résultats peuvent être comparés à ceux de notre étude car ce sont des sérums à taux faibles qui ont été sélectionnés. Dans la plupart des cas, les deux techniques avaient des résultats discordants (92,2 %), montrant la nécessité d'avoir un test de confirmation. Une étude (37), a comparé TGS TA à Architect. Parmi les 21 sérums discordants, 16 étaient rendus négatifs ou douteux avec Architect mais rendus positifs avec TGS TA, dont huit ont été confirmés positifs avec une 2^{ème} technique (Vidas, Axsym ou Enzygnost). Les données de ces huit patients ont montré qu'il s'agissait de patient avec une infection ancienne et un taux faible IgG. TGS TA paraissait être plus sensible pour la détection des taux faibles d'IgG. Dans notre étude, TGS TA est inférieur à Architect pour la détection des taux faibles d'IgG. L'étude réalisée par Villard et al. (40) a évalué neuf techniques immunoenzymatiques : Advia, Architect, Axsym, Elecsys, Enzygnost, Liaison, Platelia, Vidas et Vidia. Pour 45 sérums avec des faibles taux d'IgG confirmés par le DT, Elecsys détectait les titres faibles ou équivoques dans 97,8 % des cas, Architect, Platelia et Liaison dans respectivement, 84,4 ; 73,3 et 17,8 % des cas. Vidas détecte les taux faibles d'IgG dans 87,5 % des cas mais seulement 15 sérums sont testés. Comme dans notre étude, Elecsys présente une excellente sensibilité alors que celle du Liaison est faible. En revanche, pour Architect, Vidas et Platelia nous trouvons des sensibilités plus faibles. Cela peut être dû au faible nombre de sérums étudiés dans cette étude (40). Le travail de Franck et al. (29) a évalué la spécificité et la sensibilité du WB LDBio II, en tant que test de confirmation pour les faibles concentrations d'IgG. Il présente une sensibilité de 99,2 % et une spécificité de 100 %. Des sérums avec des taux faibles d'IgG en DT ont été testés avec le WB et deux autres automates. Le WB a rendu seulement un faux négatif alors que les automates en ont rendus respectivement cinq et 12. Cette constatation montre que l'interprétation des taux faibles d'IgG est fonction de l'automate utilisé. De plus, des sérums de patients immunodéprimés sont testés avec le DT, LDBio, Platelia et Toxoscreen. Les résultats du DT et de LDBio sont identiques mais différents de ceux de Platelia dans 90 % des cas. Ces résultats suggèrent qu'un test de confirmation, tel que LDBio II est nécessaire pour identifier les IgG spécifiques dans la

zone grise (29). Malgré un coût élevé, sa réalisation est facile comparée au DT qui nécessite des tachyzoïtes vivants de *T. gondii*.

Dans notre étude, la sensibilité des tests sérologiques est fortement augmentée lorsque les résultats douteux de chaque automate sont considérés comme positifs, tout en conservant une spécificité excellente. Une étude (47) a comparé les performances du Vidas avec deux techniques automatisées plus récentes : Liaison et Architect. Cette dernière a montré que la sensibilité de Liaison (93,8 %) reste la même, que les valeurs de la zone grise soient considérées comme positives ou négatives. Pour Vidas, la sensibilité passe de 98,4 % quand les résultats douteux sont considérés comme positifs à 93,8 % quand ils sont considérés comme négatifs. Pour Architect, la différence est plus importante ; la sensibilité passe de 84,4 % quand ils sont considérés comme négatifs à 93,8 % quand les résultats douteux sont considérés comme positifs. Les sensibilités de ces tests sont meilleures que les nôtres, mais comme dans les précédentes études, ici la cohorte était constituée de femmes enceintes ou en âge de procréer. Dans l'étude de Lesle et al. (46), comme dans notre étude, la sensibilité d'Elecsys est fortement augmentée (98,5 %) quand les résultats dans la zone grise sont considérés comme positifs et celle de Platelia (16,3 %) reste peu satisfaisante. Le seuil de positivité de ces techniques pourrait donc être diminué pour les patients immunodéprimés, permettant une meilleure détection des patients séropositifs avec un taux faible d'IgG. Le seuil d'entrée en zone grise peut également être diminué permettant de redéfinir une zone grise plus adaptée aux patients immunodéprimés. Pour la plupart des automates, le LDBio II réalisé sur les sérums de la zone grise fournisseur est toujours positif, sauf pour Elecsys. Dans notre étude, de nouveaux seuils sont proposés pour Architect, Platelia et Elecsys. Pour les autres réactifs étudiés, aucun nouveau seuil, permettant de combiner de bonnes sensibilités et spécificités, sans réaliser trop de tests de confirmation, n'a pu être proposé. Pour Liaison II et Vidas II, le peu de valeurs intermédiaires données par ces réactifs pourrait expliquer la difficulté à établir de nouveaux seuils. En effet, pour avoir une sensibilité acceptable, il faudrait effectuer un test de confirmation dès que l'automate rendrait un résultat < 3 UI/mL ou à 0 UI/mL respectivement, c'est-à-dire pour tous les sérums. Il serait donc plus intéressant, pour les sérums de patients immunodéprimés, d'effectuer directement un WB, lorsque l'on possède un Liaison ou un Vidas. Deux études ont été menées sur la diminution des seuils de

positivité pour les IgG de *T.gondii*. L'article (46) propose une modification du seuil de positivité pour Platelia. En effet, avec un seuil de positivité de 6 UI/mL, 90,5 % des résultats sont rendus négatifs, alors que le WB est positif pour 54 % de ces sérums. Comme dans notre étude, tous les WB réalisés sur les sérums en zone grise, sont positifs. Si le seuil de positivité du Platelia est abaissé à 4 UI/mL, la spécificité du test reste de 100 % mais la sensibilité sera alors de 44 %. La sensibilité est significativement plus faible que celle annoncée par les fabricants, mais la comparaison est délicate étant donné que les sérums ne proviennent pas de groupes comparables. Dans une autre étude (48), 384 sérums avec des IgG négatifs ou équivoques avec Platelia, ont été sélectionnés, dont 48 sérums provenaient de patients immunodéprimés. Toutes les sérologies ont été confirmées avec LDbio. Parmi les 261 sérums équivoques avec Platelia, 244 sont positifs avec le WB. En modifiant le seuil de positivité du Platelia à 4,4 UI/mL, 30,7 % des sérums équivoques ou négatifs seraient rendus positifs en accord avec le WB, permettant d'obtenir une sensibilité de 33,1 % et une spécificité de 99,2 %. Dans le groupe immunodéprimé, ce même seuil permet d'avoir une sensibilité de 42 % et une spécificité de 100 %. Ce seuil de positivité pour Platelia permet de ne pas avoir de faux positif, ce que l'on recherche pour la surveillance des femmes enceintes, et permet d'augmenter significativement la sensibilité et donc d'éviter de suivre mensuellement des femmes enceintes qui sont finalement séropositives. Pour les patients immunodéprimés, ce seuil permettrait de diminuer le nombre de tests de confirmation. Les seuils de positivité proposés dans ces deux publications se rapprochent de celui choisi dans notre étude pour Platelia. En revanche, aucun seuil d'entrée en zone douteuse n'est proposé.

En étudiant les résultats positifs de LDBio II, le profil montrant les bandes 30-31-33 associé à d'autres bandes ou non était le plus souvent retrouvé. Ce profil pourrait être le signe d'une immunité ancienne. Parmi les WB négatifs, certains possédaient uniquement la bande 30. Dans l'étude de Maudry et al. (39), le WB a été considéré douteux, si la bande 30 est présente mais qu'il y avait moins de trois bandes. Dans l'étude de Franck et al (29), la seule sérologie rendue positive avec le DT et négative avec LDBio II présentait une unique bande 30. De plus dans les études évaluant la précocité des tests de détection d'IgG, lors de séroconversion, la bande 30 est souvent la première à être mise en évidence. Dans l'étude de Jost et al. (49), 33 des 39 premiers sérums de femme ayant fait une séroconversion toxoplasmique

durant la grossesse, possédaient la bande 30. 26 sérologies ont été confirmées positives sur le 1^{er} sérum et les autres sur le 2^{ème}. La bande 30 pourrait être un marqueur sensible et spécifique de la présence d'IgG à taux faibles. A ce jour, aucune étude des profils de LDBio II sur des sérums montrant une immunité ancienne à taux faibles n'a été effectuée

V. Conclusion

L'évaluation de nos nouveaux seuils dans une étude prospective, chez les patients immunodéprimés, pourrait permettre d'affiner le calcul des sensibilités et spécificités en y incluant aussi les taux plus élevés d'IgG.

Une étude portant sur la réévaluation de ces seuils pourrait également être menée chez les femmes enceintes, qui ont parfois des taux faibles d'IgG, rendus négatif par les automates, entraînant un suivi mensuel inutile.

Il serait intéressant de faire un DT sur les WB « douteux », pour évaluer si en présence d'une bande 30 avec moins de 3 bandes, chez les patients immunodéprimés, le résultat du LDBio II peut être considéré comme douteux, c'est-à-dire, ne permettant pas d'exclure un contact avec *T. gondii*.

Bibliographie

1. Ajioka JW, Soldati D. *Toxoplasma: Molecular and Cellular Biology*. Horizon Scientific Press; 2007. 649 p.
2. Robert-Gangneux F, Dardé M-L. Epidemiology of and Diagnostic Strategies for Toxoplasmosis. *Clin Microbiol Rev*. 4 janv 2012;25(2):264-96.
3. Dubey JP, Lindsay DS, Speer CA. Structures of *Toxoplasma gondii* Tachyzoites, Bradyzoites, and Sporozoites and Biology and Development of Tissue Cysts. *Clin Microbiol Rev*. avr 1998;11(2):267-99.
4. Black MW, Boothroyd JC. Lytic Cycle of *Toxoplasma gondii*. *Microbiol Mol Biol Rev*. 9 janv 2000;64(3):607-23.
5. Dubey JP. Advances in the life cycle of *Toxoplasma gondii*. *Int J Parasitol*. 1 juill 1998;28(7):1019-24.
6. Dubey JP, Kotula AW, Sharar A, Andrews CD, Lindsay DS. Effect of High Temperature on Infectivity of *Toxoplasma gondii* Tissue Cysts in Pork. *J Parasitol*. avr 1990;76(2):201.
7. Berger F. Toxoplasmose chez les femmes enceintes en France : évolution de la séroprévalence et de l'incidence et facteurs associés, 1995-2003. :5.
8. Haute Autorité de Santé - Diagnostic biologique de la toxoplasmose chez les patients immunodéprimés - Patients infectés par le VIH, greffés de cellules souches hématopoïétiques et transplantés d'organe [Internet]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_2770361/fr/diagnostic-biologique-de-la-toxoplasmose-chez-les-patients-immunodeprimes-patients-infectes-par-le-vih-greffes-de-cellules-souches-hematopoiétiques-et-transplantées-d-organe
9. Tourdjman M, Strat YL. // TOXOPLASMOSIS AMONG PREGNANT WOMEN IN FRANCE: TRENDS IN SEROPREVALENCE AND ASSOCIATED FACTORS BETWEEN 1995 AND 2010. :9.
10. Maubon D, Ajzenberg D, Brenier-Pinchart M-P, Dardé M-L, Pelloux H. What are the respective host and parasite contributions to toxoplasmosis? *Trends Parasitol*. juill 2008;24(7):299-303.
11. Bessières M-H. Les infections parasitaires chez les transplantés: 2. Toxoplasmose, paludisme, trypanosomiase, anguillulose et protozooses intestinales. *Rev Francoph Lab*. 1 juin 2008;2008(403):53-9.
12. Martino R, Maertens J, Bretagne S, Rovira M, Deconinck E, Ullmann AJ, et al. Toxoplasmosis after Hematopoietic Stem Cell Transplantation. 2018;7.
13. Derouin F, Pelloux H. Prevention of toxoplasmosis in transplant patients. *Clin Microbiol Infect*. déc 2008;14(12):1089-101.

14. Martino R, Bretagne S, Einsele H, Maertens J, Ullmann AJ, Parody R, et al. Early Detection of Toxoplasma Infection by Molecular Monitoring of Toxoplasma gondii in Peripheral Blood Samples after Allogeneic Stem Cell Transplantation. *Clin Infect Dis*. 1 janv 2005;40(1):67-78.
15. Campbell AL, Goldberg CL, Magid MS, Gondolesi G, Rumbo C, Herold BC. First Case of Toxoplasmosis Following Small Bowel Transplantation and Systematic Review of Tissue-Invasive Toxoplasmosis Following Noncardiac Solid Organ Transplantation: Transplantation. *févr 2006;81(3):408-17*.
16. Villard O, Cimon B, L'Ollivier C, Fricker-Hidalgo H, Godineau N, Houze S, et al. Serological diagnosis of Toxoplasma gondii infection. *Diagn Microbiol Infect Dis*. janv 2016;84(1):22-33.
17. 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*. sept 2013;11(9):943-56.
18. Dard C, Marty P, Brenier-Pinchart M-P, Garnaud C, Fricker-Hidalgo H, Pelloux H, et al. Management of toxoplasmosis in transplant recipients: an update. *Expert Rev Anti Infect Ther*. juin 2018;16(6):447-60.
19. Soave R. Prophylaxis strategies for solid-organ transplantation. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 1 juill 2001;33 Suppl 1:S26-31.
20. Haute Autorité de Santé - Surveillance sérologique et prévention de la toxoplasmose et de la rubéole au cours de la grossesse et dépistage prénatal de l'hépatite B – Pertinence des modalités de réalisation [Internet]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_893585/fr/surveillance-serologique-et-prevention-de-la-toxoplasmose-et-de-la-rubeole-au-cours-de-la-grossesse-et-depistage-prenatal-de-l-hepatite-b-pertinence-des-modalites-de-realisation
21. AUBERT D, MAINE GT, VILLENA I, HUNT JC, HOWARD L, SHEU M, et al. Recombinant Antigens To Detect Toxoplasma gondii-Specific Immunoglobulin G and Immunoglobulin M in Human Sera by Enzyme Immunoassay. *J CLIN MICROBIOL*. 2000;38:7.
22. Sickinger E, Gay-Andrieu F, Jonas G, Schultess J, Stieler M, Smith D, et al. Performance characteristics of the new ARCHITECT Toxo IgG and Toxo IgG Avidity assays. *Diagn Microbiol Infect Dis*. nov 2008;62(3):235-44.
23. Pietkiewicz H, Hiszczyńska-Sawicka E, Kur J, Petersen E, Nielsen HV, Stankiewicz M, et al. Usefulness of Toxoplasma gondii-Specific Recombinant Antigens in Serodiagnosis of Human Toxoplasmosis. *J Clin Microbiol*. 4 janv 2004;42(4):1779-81.
24. Golkar M, Rafati S, Abdel-Latif MS, Brenier-Pinchart M-P, Fricker-Hidalgo H, Sima BK, et al. The dense granule protein GRA2, a new marker for the serodiagnosis of acute Toxoplasma infection: comparison of sera collected in both France and Iran from pregnant women. *Diagn Microbiol Infect Dis*. août 2007;58(4):419-26.

25. Kotresha D, Noordin R. Recombinant proteins in the diagnosis of toxoplasmosis. *APMIS Acta Pathol Microbiol Immunol Scand.* août 2010;118(8):529-42.
26. Zhang K, Lin G, Han Y, Li J. Serological diagnosis of toxoplasmosis and standardization. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem.* 1 oct 2016;461:83-9.
27. Sabin AB, Feldman HA. Dyes as Microchemical Indicators of a New Immunity Phenomenon Affecting a Protozoon Parasite (*Toxoplasma*). *Science.* 10 déc 1948;108(2815):660-3.
28. Reiter-Owona I, Petersen E, Joynson D, ck HA, Darde ML, Disko R, et al. The past and present role of the Sabin±Feldman dye test in the serodiagnosis of toxoplasmosis. *Bull World Health Organ.* 1999;7.
29. Franck J, Garin YJ-F, Dumon H. LDBio-Toxo II Immunoglobulin G Western Blot Confirmatory Test for Anti-Toxoplasma Antibody Detection. *J Clin Microbiol.* 7 janv 2008;46(7):2334-8.
30. Villard O, Cimon B, Franck J, Fricker-Hidalgo H, Godineau N, Houze S, et al. Evaluation of the usefulness of six commercial agglutination assays for serologic diagnosis of toxoplasmosis. *Diagn Microbiol Infect Dis.* juill 2012;73(3):231-5.
31. Weiss LM, Dubey JP. Toxoplasmosis: A history of clinical observations. *Int J Parasitol.* 1 juill 2009;39(8):895-901.
32. Montoya JG, Liesenfeld O. Toxoplasmosis. *Lancet Lond Engl.* 12 juin 2004;363(9425):1965-76.
33. Renoult E, Georges E, Biava MF, Hulin C, Frimat L, Hestin D, et al. Toxoplasmosis in kidney transplant recipients: report of six cases and review. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* avr 1997;24(4):625-34.
34. Khammari I, Saghrouni F, Lakhal S, Bouratbine A, Ben Said M, Boukadida J. A New IgG Immunoblot Kit for Diagnosis of Toxoplasmosis in Pregnant Women. *Korean J Parasitol.* oct 2014;52(5):493-9.
35. Meylan P, Paris L, Liesenfeld O. Multicenter evaluation of the Elecsys Toxo IgG and IgM tests for the diagnosis of infection with *Toxoplasma gondii*. *Eur J Microbiol Immunol.* juin 2015;5(2):150-8.
36. Maudry A, Chene G, Chatelain R, Bellete B, Patural H, Hafid J, et al. Expertise du nouveau test Access® TOXO-IgGII et comparaison avec trois autres techniques automatisées et la technique Western Blot LDBIO TOXO II IgG®. *Immuno-Anal Biol Spéc.* févr 2009;24(1):42-9.
37. Levigne P, Peyron F, Wallon M. Assessment of the diagnostic performance of the IDS-iSYS tests for toxo IgG, toxo IgM and avidity. *Diagn Microbiol Infect Dis.* oct 2016;86(2):148-52.

38. Delacour H, Servonnet A, Perrot A, Vigezzi JF, Ramirez JM. La courbe ROC (receiver operating characteristic) : principes et principales applications en biologie clinique. *Ann Biol Clin.* 2005;63:10.
39. Maudry A, Chene G, Chatelain R, Patural H, Bellete B, Tisseur B, et al. Bicentric Evaluation of Six Anti-Toxoplasma Immunoglobulin G (IgG) Automated Immunoassays and Comparison to the Toxo II IgG Western Blot. *Clin Vaccine Immunol.* 9 janv 2009;16(9):1322-6.
40. Villard O, Cimon B, L'Ollivier C, Fricker-Hidalgo H, Godineau N, Houze S, et al. Help in the Choice of Automated or Semiautomated Immunoassays for Serological Diagnosis of Toxoplasmosis: Evaluation of Nine Immunoassays by the French National Reference Center for Toxoplasmosis. *J Clin Microbiol.* 12 janv 2016;54(12):3034-42.
41. Rigsby P, Rijpkema S, Guy EC, Francis J, Das RG. Evaluation of a candidate international standard preparation for human anti-Toxoplasma immunoglobulin G. *J Clin Microbiol.* nov 2004;42(11):5133-8.
42. Hofgärtner WT, Swanzy SR, Bacina RM, Condon J, Gupta M, Matlock PE, et al. Detection of immunoglobulin G (IgG) and IgM antibodies to *Toxoplasma gondii*: evaluation of four commercial immunoassay systems. *J Clin Microbiol.* 12 janv 1997;35(12):3313-5.
43. Olsen MA, Root PP. Comparison of four different immunoassays for detection of *Toxoplasma*-specific immunoglobulin G. *Diagn Microbiol Infect Dis.* mai 1994;19(1):19-24.
44. Roux-Buisson N, Fricker-Hidalgo H, Foussadier A, Rolland D, Suchel-Jambon A-S, Brenier-Pinchart M-P, et al. Comparative analysis of the VIDAS Toxo IgG IV assay in the detection of antibodies to *Toxoplasma gondii*. *Diagn Microbiol Infect Dis.* sept 2005;53(1):79-81.
45. Petersen E, Borobio MV, Guy E, Liesenfeld O, Meroni V, Naessens A, et al. European Multicenter Study of the LIAISON Automated Diagnostic System for Determination of *Toxoplasma gondii*-Specific Immunoglobulin G (IgG) and IgM and the IgG Avidity Index. *J Clin Microbiol.* 4 janv 2005;43(4):1570-4.
46. Leslé F, Touafek F, Fekkar A, Mazier D, Paris L. Discrepancies between a new highly sensitive *Toxoplasma gondii* ELISA assay and other reagents: interest of Toxo IgG Western blot. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol.* oct 2011;30(10):1207-12.
47. Murat J-B, Dard C, Fricker Hidalgo H, Dardé M-L, Brenier-Pinchart M-P, Pelloux H. Comparison of the Vidas System and Two Recent Fully Automated Assays for Diagnosis and Follow-Up of Toxoplasmosis in Pregnant Women and Newborns. *Clin Vaccine Immunol.* août 2013;20(8):1203-12.

48. Mouri O, Kendjo E, Touafek F, Fekkar A, Konte O, Imbert S, et al. The impact of lowering the cut-off value on the sensitivity of the Platelia Elisa IgG (Bio-Rad) test for toxoplasmosis diagnosis. *Parasite Paris Fr.* 2015;22:22.
49. Jost C, Touafek F, Fekkar A, Courtin R, Ribeiro M, Mazier D, et al. Utility of immunoblotting for early diagnosis of toxoplasmosis seroconversion in pregnant women. *Clin Vaccine Immunol CVI.* nov 2011;18(11):1908-12.

TITLE

Evaluation of seven automated reagents for the serological screening of toxoplasmosis in immunocompromised patients.

SUMMARY

Immunocompromised patients are at higher risk of developing severe toxoplasmosis from recently acquired acute infection or from tissue cysts reactivation, the most frequently. Knowledge of serologic status is therefore crucial. Nevertheless it is often equivocal. The aim of this study was to assess the sensitivity and specificity of seven reagents in a population of immunocompromised patients. Sera from 354 patients were collected and analyzed. Elecsys® offered the best analytic performances, superior to those of Architect® and Platelia®, which were superior to those of Access II® and TGS TA®. Vidas II® and Liaison II® reagents exhibited poor analytical performances in this cohort. For Elecsys®, Platelia® and Architect®, new thresholds for grey zone and positive zone have been defined in order to improve the sensitivity of these reagents, while maintaining excellent specificity.

RESUME en français

Les patients immunodéprimés présentent un risque plus élevé de développer une toxoplasmose grave due à une infection aiguë récemment acquise ou à la réactivation de kystes tissulaires, le plus fréquemment. La connaissance du statut sérologique est donc primordiale. Cependant ce dernier est souvent rendu douteux. Le but de cette étude était d'évaluer la sensibilité et la spécificité de sept réactifs dans une population de patient immunodéprimé. Les sérums de 354 patients ont été recueillis et analysés. Elecsys® présentait la meilleure performance analytique, supérieure à celle d'Architect® et de Platelia®, elles-mêmes supérieures à celles d'Access II® et TGS TA®. Les réactifs Vidas II® et Liaison II® présentaient de faibles performances analytiques dans cette cohorte. Pour Elecsys®, Platelia® et Architect®, de nouveaux seuils d'entrée en zone grise et en zone positive ont été définis permettant ainsi d'améliorer la sensibilité de ces réactifs, tout en conservant une excellente spécificité.

Titre et résumé en Anglais : voir au recto de la dernière page de la thèse

DISCIPLINE administrative : Biologie médicale

MOTS-CLES : *Toxoplasma gondii* – toxoplasmose – Immunodéprimés - sérodiagnostic – IgG – Access II® - Architect® - Elecsys® - LDBIO II® - Liaison II® - Platelia® - TGS TA® - Vidas II®

INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE :

Université Paul Sabatier – Toulouse III
Faculté des Sciences Pharmaceutiques
35, chemin des Maraîchers
31062 TOULOUSE Cedex 9

Directeur de thèse (Nom et Prénom) : Fillaux Judith