



UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

ANNEE : 2021

THESES 2021 TOU3 2081

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement
par

AVIGNON Marine
Née le 24 Novembre 1993 à Tampa (USA)

**TOXOPLASMOSE CONGENITALE : COMPARAISON DE QUATRE REACTIFS POUR LA
DETECTION D'IgG ET IgM CHEZ LES NOUVEAU-NES**

Vendredi 15 Octobre 2021

Directeur de thèse : FILLAUX Judith

JURY

Président : Mr le Professeur VALENTIN Alexis
1er assesseur : Mme le Professeur LACHAUD Laurence
2ème assesseur : Mme le docteur CASSAING Sophie
3ème assesseur : Mme le docteur FILLAUX Judith

**PERSONNEL ENSEIGNANT
de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques de l'Université Paul Sabatier
au 1er octobre 2020**

Professeurs Émérites

Mme BARRE A.	Biologie Cellulaire
M. BENOIST H.	Immunologie
M. BERNADOU J.	Chimie Thérapeutique
M. CAMPISTRON G.	Physiologie
M. GAIRIN J.E.	Pharmacologie
Mme NEPVEU F.	Chimie analytique
M. ROUGE P.	Biologie Cellulaire
M. SALLES B.	Toxicologie

Professeurs des Universités

Hospitalo-Universitaires

Mme AYYOUB M.	Immunologie
M. CESTAC P.	Pharmacie Clinique
M. CHATELUT E.	Pharmacologie
Mme DE MAS MANSAT V.	Hématologie
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 BERNARDES-GÉNISSON V.	Chimie thérapeutique
Mme BOUTET E.	Toxicologie - Sémiologie
Mme COUDERC B.	Biochimie
M. CUSSAC D. (Vice-Doyen)	Physiologie
M. FABRE N.	Pharmacognosie
Mme GIROD-FULLANA S.	Pharmacie Galénique
M. GUIARD B.	Pharmacologie
M. LETISSE F.	Chimie pharmaceutique
Mme MULLER-STAUMONT C.	Toxicologie - Sémiologie
Mme REYBIER-VUATTOUX K.	Chimie analytique
M. SEGUI B.	Biologie Cellulaire
Mme SIXOU S.	Biochimie
M. SOUCHARD J-P.	Chimie analytique
Mme TABOULET F.	Droit Pharmaceutique
M. VERHAEGHE P.	Chimie Thérapeutique

Maîtres de Conférences des Universités

Hospitало-Universitaires

M. DELCOURT N.	Biochimie
Mme JUILLARD-CONDAT B.	Droit Pharmaceutique
M. PUISSET F.	Pharmacie Clinique
Mme ROUCH L.	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
M. BROUILLET F.	Pharmacie Galénique
Mme CABOU C.	Physiologie
Mme CAZALBOU S. (*)	Pharmacie Galénique
Mme CHAPUY-REGAUD S.	Bactériologie - Virologie
Mme COLACIOS C.	Immunologie
Mme COSTE A. (*)	Parasitologie
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-VIDAL A.	Toxicologie
Mme GADEA A.	Pharmacognosie
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. LE NAOUR A.	Toxicologie
M. LEMARIE A.	Biochimie
M. MARTI G.	Pharmacognosie
Mme MONFERRAN S.	Biochimie
M. SAINTE-MARIE Y.	Physiologie
M. STIGLIANI J-L.	Chimie Pharmaceutique
M. SUDOR J. (*)	Chimie Analytique
Mme TERRISSE A-D.	Hématologie
Mme TOURRETTE-DIALLO 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 Hospitало-Universitaires

Mme LARGEAUD L.	Immunologie
M. LE LOUEDEC F.	Pharmacologie
M. MOUMENI A.	Biochimie
M. PAGES A.	Pharmacie Clinique
Mme SALABERT A.S	Biophysique
Mme TRIBAUDEAU L.	Droit Pharmaceutique

Attaché Temporaire d'Enseignement et de Recherche (ATER)

M. François-Xavier TOUBLET	Chimie Thérapeutique
----------------------------	----------------------

Remerciements

A Monsieur le **Professeur Alexis VALENTIN**

Je vous remercie d'avoir accepté de présider ce jury et de l'intérêt que vous avez bien voulu porter à mon travail.

A Madame le **Professeur Laurence LACHAUD**

Je vous remercie d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse et d'avoir fait le déplacement depuis Montpellier.

A Madame le **Docteur Sophie CASSAING**

Je vous remercie d'avoir accepté d'être membre de ce jury de thèse. Merci également pour votre gentillesse et votre enseignement au cours du stage de Parasitologie.

A Madame le **Docteur Judith FILLAUX**

Je te remercie d'avoir accepté de diriger ma thèse. Un grand merci pour ton encadrement, tes précieux conseils et ta disponibilité. Merci pour tous ces rendez-vous et tes nombreuses relectures. Je n'aurais pas pu espérer meilleure directrice de thèse.

A l'équipe du **secteur de SEROLOGIE**

Je tiens à remercier tous les techniciens et plus particulièrement Catherine, Estelle et Delphine qui m'ont aidée dans ce travail et au passage de tous ces tubes !

A ma famille,

A mes parents, sans qui je ne serais jamais arrivée là.

A mon père, merci de me guider tous les jours vers la personne que je deviens. Tu as toujours su allier travail et famille. Je suis admirative de la personne que tu es.

A ma mère, pour avoir toujours voulu notre réussite. Merci de m'avoir aidée et soutenue pendant toutes ces années autant dans le travail que dans ma passion. Entre nous trois, tu as vécu plus de concours que n'importe qui !

A mes frères, qui m'ont supportée et soutenue pendant les moments difficiles des concours.

A Simon, mon grand frère, toujours là pour sa petite sœur ! Tu as réussi à fonder une magnifique famille. Plein de bonheur à toi, **Julie** et mes neveux **Hugo** et **Paul** !

A Théo, le petit, à qui tout réussit, et le premier de nous qui va avoir une vraie coloc ! Tu as l'air de bien profiter de ton internat, régale toi !

A Laurent, toujours présent pour la famille Avignon, je suis touchée que tu aies fait le déplacement... et avec le champagne qui plus est !

A mon grand-père, dans le sud on est quand même mieux !

A Fanny, Stéphane, Thomas, Anah, Gilles, Marilyne, Manon

A mes amis,

A mes amies du lycée,

Agatha, malgré la distance, tu restes toujours dans mon cœur. J'espère avoir l'occasion de venir te voir dans ta nouvelle vie américaine. Ta joie de vivre et ton enthousiasme me manquent.

Blandine, mon petit poux, finalement on n'aura jamais eu notre coloc mais je suis heureuse de t'avoir toujours près de moi. Tu es un vrai petit rayon de soleil. Merci pour tous ces jeudis soirs à l'Obar, qui resteront mémorables.

A mes amis du poney,

A Alice, ce voyage au Canada m'aura permis de voir à quelle point il manque une case autant à l'une qu'à l'autre mais aussi que tu es une amie formidable ! Merci pour tous ces moments de folies quand on se retrouve. Merci d'être toujours présente.

A Alixia, tu as toujours été là pour moi, dans les bons comme les mauvais moments, bienveillante et sans jugement. A notre amitié qui dure et se renforce tous les jours, à **Aalya**.

A Charline, pour tous ces concours passés ensemble, ces fous rires. Ces années là font partie de mes meilleurs souvenirs. Redescends vite dans le sud, tu es bien trop loin.

A Alexis, boire avec modération telle est la devise ou pas...

A Mélina pour tous ces petits moments agréables quand on arrive à se voir

A mon groupe de Montpelliéraines, pharmaciennes qui me manquent tant,

A **Pauline**, ma première belle découverte de pharmacie... Notre amitié persiste malgré les parties de Uno... A toutes ces discussions de débriefing ensemble et tes longs vocaux. Tu es notre maman Popo du groupe. J'ai hâte qu'on puisse se retrouver plus souvent !

A **Laura**, quelle chance j'ai eu de t'avoir en tant que binôme pendant ces années de fac (même si tu t'es occupée toute seule de la plaque de silice !) A tous ces bons moments passés ensemble avec des patates trop cuites mais bonnes quand même. On se retrouve en Martinique bientôt !

A **Octavie**, rencontre tardive mais pas des moindres, vivement que tu reviennes en France pour nous faire une embuscada comme tu sais si bien faire...

A **Marine B**, pas vraiment pharmacienne mais tout comme. A ton petit corps et sa capacité de manger autant, tu es la meilleure guide des restaurants que l'on puisse avoir.

A ma super promo de Biologie Médicale,

A **mes deux coups de cœur, Delphine**, une évidence depuis le premier jour de stage, tu peux partir loin, tu ne pourras pas te débarrasser de moi (syndrome de l'abandon !). **Orancie**, pour toutes ces expressions qui te sont propres, ton soutien malgré la distance et le fait qu'on se comprenne si bien. A ces deux amitiés si importantes à mes yeux.

A **Caroline**, pour avoir instauré le twerk/frigo, j'attends notre prochaine soirée claquette/survêt avec impatience.

A **Alban**, merci au stage de Parasito et d'Héματο qui m'ont permis de voir à quel point tu étais une vraie beauté.

A **Pierre-Luc**, pillu, le jour où tu as battu Paul en vélo restera gravé dans nos mémoires, tu es le meilleur !

A **Dorian**, on aura réussi à avoir un stage ensemble et ça, c'est quand même pas mal !

A **Julia, Laurie, Claire, Gabriela, Yolla.**

Aux plus vieux,

Imane, parce que tu es belle et que le débit de bêtises défile à la minute quand on est toutes les deux !

Ali, pour ton franc parler et avoir été mon mentor du stage d'héματο !

A **Florence**, pour ton autodérision et ta manière de raconter si bien les histoires.

A **Hugo** et ton costume de pilote peu importe le thème, **Maximin** et ton humour soft, **Émeline et Aude** pour vos rires communicatifs, **Émilie G** pour ta douceur et ta gentillesse, **Pauline C**, ma chef maintenant, **Julie R** et tous ces repas partagés en garde, **Tom**, toujours le petit mot bien placé pour faire rire, **Pierre S, Marie C, Anaïs, Sabine**

Aux plus jeunes,

A **Mathilde**, merci pour ces moments photobomb, que tu gères si bien !

A **Germain**, pour ta veste vintage mais neuve que j'ai jamais vue !

A **Apolline**, **Lucie F**, pour vos voix si douces et discrètes ahah !**Christina**.

Aux sœurs Thène : Émilie, pour ton humour (et pour partager tes astuces PowerPoint), **Lucie**, pour ton empathie et ce verre jamais pris au bout de 1an (à faire)!

Aux PH rencontrés pendant cet internat,

A **Anissa** (il est 16h, heure d'été au moment où j'écris), pour ta douceur et ta bienveillance. A **Cédric** (bonjouraan), pour immortaliser chaque instant de nos vies. A ces voyages, ces fous rire en duo comme en trio. Merci pour votre soutien de ces derniers mois. A nos futures aventures ensemble. A ces deux amitiés auxquelles je tiens.

A **Adrien**, aussi bien lécheur d'escargot que de glaces, à toutes ces blagues que tu as pu nous faire (surtout les paillettes). A **Nono** qui arrive bientôt sur Toulouse.

A **Pauline G**, toute douce et pourtant tu peux devenir la bête du Sud-Ouest. Une personne en or, ma meilleure partenaire de déguisement, vivement le prochain !

A **Jamal**, pour continuer de nous amener au Marrakech et tes goûts musicaux que j'apprécie tant.

A **Pauline M** bientôt le retour pour reprendre nos séances de courses à pied !

Eugénie, l'électron libre, **Mehdi** (Gonzi est un homme incroyable !), **Sélim**, la pépète

Un grand merci à toutes les personnes que j'ai pu croiser pendant cet internat, c'était trois belles années. J'espère que la dernière sera mémorable !

*A **Paul**, merci d'être toujours là pour moi.*

TABLE DES MATIERES

Introduction	2
Sérodiagnostic de la toxoplasmose à la naissance	4
1. Techniques sérologiques validées chez l'enfant	5
1.1. ISAGA <i>Toxoplasma</i> IgM BioMérieux®	5
1.2. ELISA Platelia <i>Toxoplasma</i> IgM et IgG Biorad®	6
1.3. Western-blot <i>Toxoplasma</i> WB IgG-IgM LDBio®	7
2. Autres techniques disponibles	8
2.1. Techniques immunoenzymatiques (EIA)	8
3. Etat littérature	9
3.1. IgM	9
3.2. IgG	10
Évaluation de réactifs commercialisés	12
1. Contexte	12
2. Etude expérimentale	13
3. Résultats et discussion	25
3.1. Limites	25
3.2. IgM	26
3.3. IgG	27
Conclusion	29
Bibliographie	30

Introduction

La toxoplasmose est une zoonose cosmopolite, causée par *Toxoplasma gondii*, protozoaire, parasite intracellulaire obligatoire appartenant au phylum *Apicomplexa* (1).

Généralement asymptomatique, la toxoplasmose peut être responsable d'infections chez l'immunodéprimé et d'infections congénitales sévères (retard psychomoteur, hydrocéphalie, chorioretinite pigmentaire, calcifications intracrâniennes...) voire fatales pour le fœtus (avortement spontané, mort fœtale) lors d'une primo-infection (ou d'une réactivation) de la mère pendant la grossesse (2). Le risque de transmission au fœtus est globalement de 30 %. Il varie significativement en fonction de la date de l'infection maternelle ; le risque de transmission materno-fœtale augmente avec le terme à l'inverse de la gravité de l'atteinte fœtale qui, elle, diminue (3).

D'après le Centre National de Référence (CNR), environ 50 % de la population française contracte la toxoplasmose au cours de la vie et le nombre d'infections acquises au cours de la grossesse est estimé à 2700 par an pour environ 700 000 grossesses. En 2018, 151 cas de toxoplasmose congénitale ont été diagnostiqués, soit une prévalence de 0,02 %. La toxoplasmose congénitale est considérée, en France, comme un important problème de santé publique du fait des conséquences potentiellement graves pour l'enfant. Pour diagnostiquer une séroconversion au cours de la grossesse, il faut déterminer le statut sérologique de la femme en âge de procréer, de préférence avant la grossesse. La prévention de la toxoplasmose congénitale en France, prévue par la législation, impose un suivi mensuel du statut sérologique de la femme enceinte, séronégative en début de grossesse, associé à l'application de règles hygiéno-diététiques (4,5).

En cas de séroconversion pendant la grossesse avec ou sans diagnostic anténatal, il est important de réaliser un diagnostic post-natal. Celui-ci repose sur une combinaison de méthodes : détection du parasite par PCR dans le liquide amniotique (LA) per-natal, dépistage sérologique

(détection des IgG, IgM et IgA néosynthétisées) dans le sang de cordon (SC) et/ou le sérum post-natal (SP). Le nombre de techniques de dosage des IgG et IgM validées dans ce contexte (analyse du sang de cordon puis du sérum post-natal) est limité.

L'objectif du travail que nous vous présentons ici est d'évaluer les performances analytiques de réactifs (IgG et IgM) commercialisés, utilisés chez l'adulte, en comparaison aux techniques « de références », actuellement validées chez l'enfant, pour permettre leur utilisation sur sang de cordon et sérum post-natal.

Sérodiagnostic de la toxoplasmose à la naissance

En 2017, le CNR précise qu'il n'existe, à sa connaissance, que deux kits commerciaux validés sur les échantillons de sang de cordon et de sérum post-natal pour la détection des IgM. L'un est basé sur une technique ISAGA : Immuno-Sorbent Agglutination Assay (ISAGA *Toxoplasma* IgM BioMérieux®) et l'autre sur une technique ELISA (Platelia *Toxoplasma* IgM BioRad®). ISAGA est actuellement, le gold-standard pour la détection des IgM et IgA et repose sur une technique manuelle utilisant une suspension de tachyzoïtes (6). Cette méthode présente deux inconvénients majeurs ; d'une part, l'entretien de toxoplasme vivant pour sa fabrication remet en cause le maintien de ce test en routine du fait de rupture de stock régulière et d'incertitude sur la poursuite de sa fabrication à l'heure où il est moins coûteux de produire des réactifs à base d'antigènes recombinants ; d'autre part, l'expertise technique avancée dans sa réalisation nécessite du personnel spécifique alors que l'automatisation et le gain de temps sont les moteurs des plateaux techniques de laboratoires d'analyses médicales.

Pour le dépistage et le suivi cinétique des IgG, seul un réactif (Platelia *Toxoplasma* IgG BioRad®) porte la mention « validé sur sang de cordon » dans la notice fournisseur. Il est donc nécessaire d'évaluer d'autres réactifs pour la détection des IgM et IgG sur sang de cordon et sérum post-natal. Les méthodes ELISA pour la détection des anticorps IgG anti-*T. gondii* ne permettent pas de faire la différence entre les anticorps transmis par la mère et ceux néosynthétisés par le nouveau-né. En effet, les IgG de la mère traversent la barrière placentaire passivement contrairement aux IgM et IgA. Un western-blot comparatif doit être réalisé pour différencier la part d'IgG provenant de la mère et la part synthétisée par le nouveau-né. Ainsi, pour l'évaluation des réactifs, il est important de différencier performance technique, capacité de détecter tous les anticorps spécifiques de la toxoplasmose et performance diagnostique, capacité de distinguer les anticorps néosynthétisés par le nouveau-né de ceux transmis par la mère.

1. Techniques sérologiques validées chez l'enfant

1.1. ISAGA *Toxoplasma* IgM BioMérieux®

Cette méthode utilise des « antigènes figurés » c'est-à-dire l'utilisation du parasite entier (vivant ou fixé), ici, une suspension de tachyzoïtes, comme antigène (6). Cette technique, utilisée pour la recherche d'IgM repose sur une agglutination après immunocapture du toxoplasme par les anticorps du patient. Le fond des puits des plaques de microtitration, en forme de U, est sensibilisé par des anticorps monoclonaux anti-IgM humaines et incubé avec le sérum du patient. Après lavage, l'addition de parasites permet d'observer soit une réaction positive, en cas de présence d'anticorps anti-*Toxoplasma* dans le sérum du patient, soit négative, en cas d'absence d'anticorps spécifiques. Une réaction positive correspond à un voile formé au fond de la cupule. Une réaction négative correspond à un bouton de sédimentation (7).

Afin de quantifier les IgM, la même réaction est effectuée sur trois puits successifs dans lesquels les toxoplasmes entiers sont ajoutés en quantité croissante. Les résultats sont exprimés en nombre de croix par puits, de 0 (sédimentation complète des parasites, aucun voile d'agglutination) à 4+ (agglutination totale, un voile se forme au fond de la cupule), permettant d'attribuer au sérum testé un score total allant de 0 à 12 sur l'ensemble des trois puits pour un patient. Le seuil de positivité varie selon le type de patient (adulte, nouveau-né). Pour les enfants de moins de 6 mois, un indice ISAGA ≥ 3 permet d'affirmer la présence d'IgM spécifiques (7). Pour la recherche des IgM, ce test est très sensible (permet de détecter les IgM précocement) et très spécifique (non influencé par la présence de facteur rhumatoïde) (8,9).

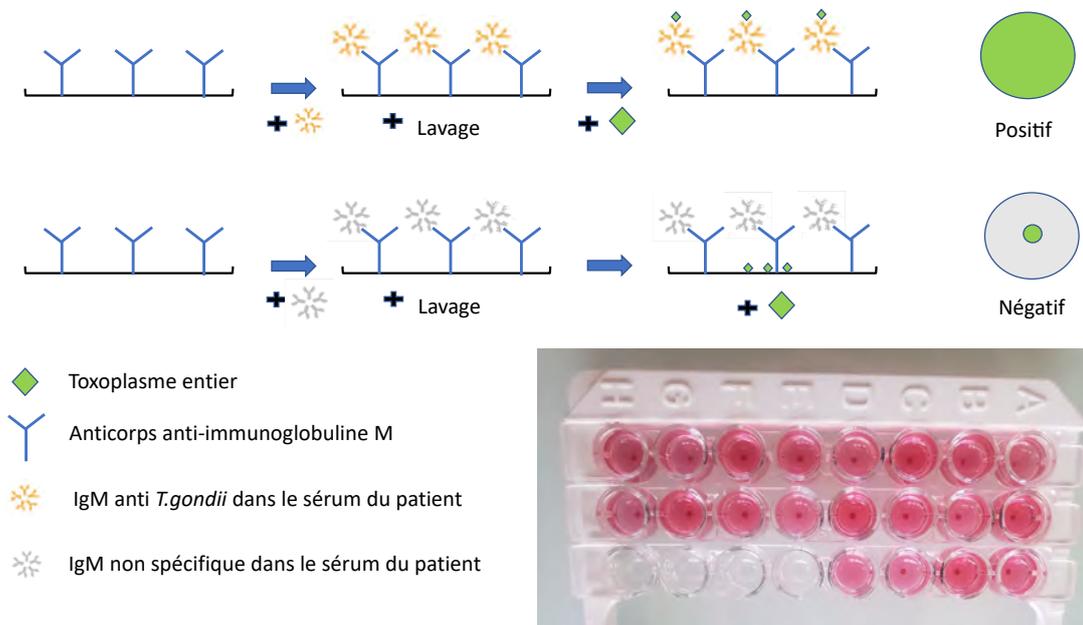


Figure 1 : ISAGA® Toxo IgM

1.2. ELISA Platelia *Toxoplasma* IgM et IgG Biorad®

Cette méthode utilise des antigènes solubles, qui par opposition aux antigènes figurés correspondent à des macromolécules antigéniques extraites du parasite (6). L'ELISA indirecte dit « classique » repose sur un dosage enzymatique en deux étapes. Dans un premier temps les antigènes solubles sont mis en contact avec le sérum du patient. Les anticorps spécifiques sont ensuite mis en évidence par l'addition d'un anti-anticorps marqué par une enzyme. Le complexe antigène-anticorps sera alors révélé par l'addition d'un substrat de l'enzyme, provoquant une réaction colorée. En fonction de l'anti-anticorps choisi, cette technique permet la détection des IgG ou des IgM. Les avantages de cette méthode, selon le fournisseur, sont qu'elle est automatisable, fiable, reproductible, rapide, sensible et qu'elle possède une immunoréactivité maximale (aucun marqueur n'interfère avec les sites de l'anticorps primaire) (10).

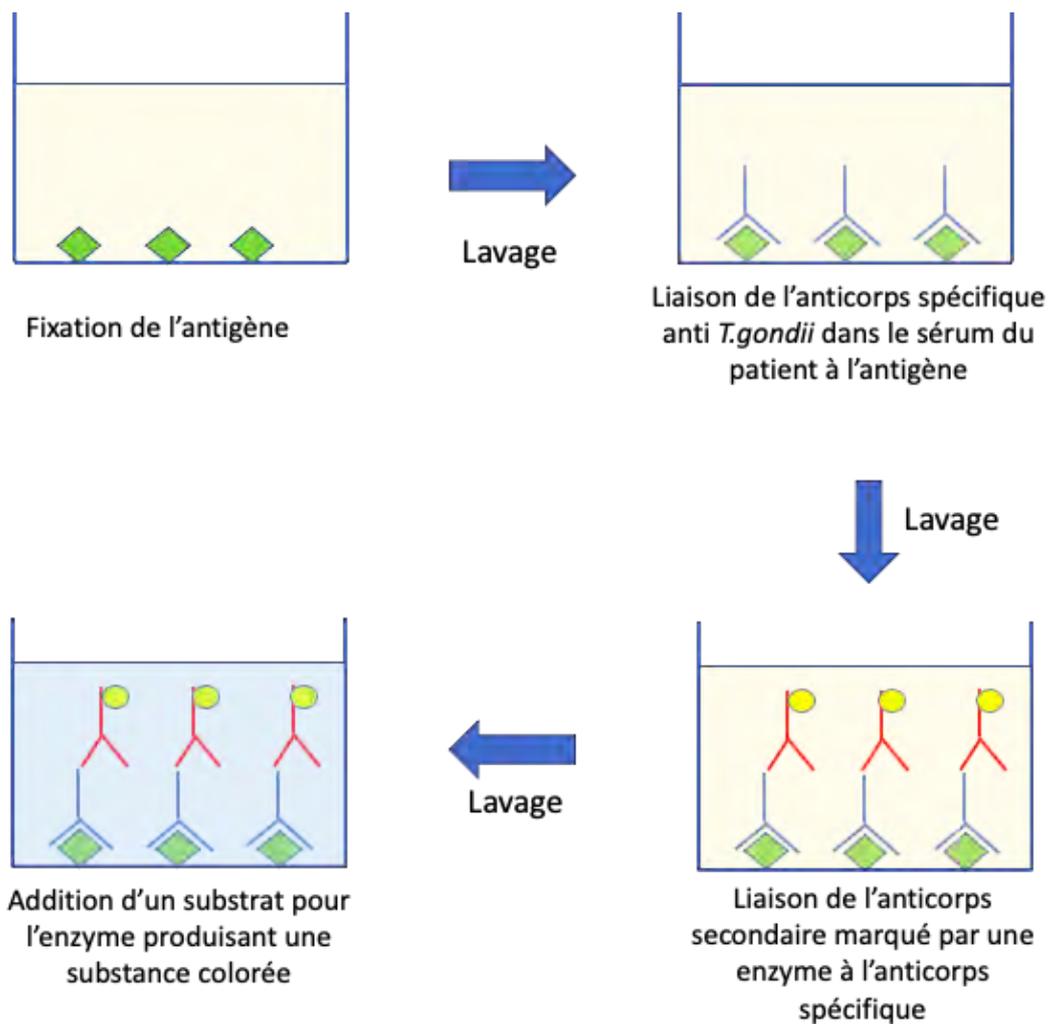


Figure 2 : ELISA indirect

1.3. Western-blot *Toxoplasma* WB IgG-IgM LDBio®

Le western-blot comparatif est une technique complémentaire utilisée pour objectiver la néo-synthèse d'anticorps par le nouveau-né. Ce test immunoblot de comparaison des profils immunologiques (CIP-WB) IgG et IgM destiné au diagnostic de :

- La toxoplasmose congénitale à la naissance (J0) : CIP-WB IgG et IgM entre le sang maternel et le sang du cordon.
- La toxoplasmose congénitale en suivi post-natal (J+N) : CIP-WB IgG et IgM entre le sang du cordon à J0 et le sang de l'enfant à J+N

2. Autres techniques disponibles

De nombreuses méthodes sont disponibles sur le marché pour la détection des anticorps IgG et IgM anti *Toxoplasma gondii*. Les techniques immuno-enzymatiques se sont largement répandues dans les laboratoires de routine en tant que tests de screening rapides, automatisés. Beaucoup de fabricants fournissent des tests commerciaux pour la détection et quantification des IgG et IgM, avec généralement de bonnes performances (6,11). Le défaut majeur de ces tests est la mauvaise standardisation des résultats entre les techniques, due à des variations de nature d'antigènes d'un kit commercial à un autre (6,12). De plus aucune de ces méthodes n'est validée sur sang de cordon ou sérum du nouveau-né.

2.1. Techniques immunoenzymatiques (EIA)

Plusieurs types d'essais immunoenzymatiques ont été développés, en particulier ELISA, pour la détection des anticorps anti-*Toxoplasma gondii*. Différentes techniques existent sur le marché parmi lesquelles on peut retrouver :

- ELFA (Enzyme Linked Fluorescence Assay) de Biomérieux
- CLIA (ChemiLuminescence Immuno Assay) de Diasorin
- CMIA (Chemiluminescent Microparticle Immuno Assay) de Abbott
- ECLIA (Electro ChemiLuminescence Immuno Assay) de Roche

CLIA et CMIA sont les mêmes techniques ; un nom différent a été donné par les fournisseurs. Excepté pour ECLIA, le principe est le même que pour l'ELISA indirecte dit « classique ». La différence se fait sur la révélation de l'anticorps spécifique. Ce signal peut être un produit coloré (ELISA), fluorescent (ELFA) ou un signal lumineux par réaction de chimiluminescence (CLIA=CMIA) (11). L'ECLIA repose sur une méthode sandwich avec ajout à posteriori de la phase solide marquée (microparticules tapissées de streptavidine). La détection se fait ensuite par électrochimiluminescence.

3. Etat littérature

De nombreuses études sont publiées sur l'évaluation de réactifs pour la détection des anticorps IgG et IgM anti-*Toxoplasma gondii*. Cependant très peu de données bibliographiques sont retrouvées sur l'utilisation de ces tests chez le nouveau-né. Il est important de choisir la bonne méthode pour chaque analyse en fonction de la situation clinique, de la performance des tests et de l'épidémiologie (13). Les techniques immunoenzymatiques sont largement répandues dans les laboratoires. Il s'agit de techniques automatisées permettant une optimisation de la reproductibilité et des délais de réalisation (11,14). Les seuils et les cinétiques sont variables entre les fabricants et les tests non comparables entre eux (6,11,14).

3.1. IgM

Les anticorps IgM sont les premiers à devenir positif après une infection à *Toxoplasma*. Une spécificité élevée et la précocité d'apparition des IgM sont très importants pour assurer le diagnostic d'une infection à *T. gondii* : la détection d'IgM non spécifiques pendant la grossesse peut conduire à des examens supplémentaires et à des traitements inutiles.

ISAGA est la technique de référence pour la détection des IgM. Non automatisée, elle requiert un personnel expérimenté (14) et est, principalement, réalisée dans des laboratoires experts. Ce test sérologique est considéré comme l'un des tests les plus sensibles dans le commerce (8,15). La littérature rapporte qu'il s'agit d'un des tests les plus rapidement positif au moment de l'infection aiguë chez l'adulte (8,9,11,14) et chez l'enfant (8,9). Il existe peu d'études qui comparent les techniques automatisées à cette technique de référence.

Murat *et al.* (16) ont mené une étude sur sérums de femmes enceintes et de nouveau-nés et ont montré :

- Des sensibilités plus élevées pour Vidas et Liaison que pour Architect chez la femme enceinte. Cette notion est retrouvée chez les nourrissons dans cette étude, mais n'a pas

pu être prouvée, compte tenu du faible effectif de l'échantillon. Par ailleurs, il n'y avait pas de comparaison par rapport à la technique ISAGA.

- Les tests Architect, Vidas et Liaison semblaient très spécifiques.
- Sur sang périphérique, aucun faux positif a été observé chez les nouveau-nés sans toxoplasmose congénitale

Guegan *et al.* (5) ont montré que le traitement anti-*toxoplasmique* maternel ainsi que sa durée sont associés à une sensibilité réduite du test de diagnostic ISAGA® IgM chez le nouveau-né. La détection des IgM par ELISA Platelia® n'était pas affectée par le traitement (5).

D'autres études comparatives, nombreuses, sont menées sur sérums adultes seuls et montrent que les spécificités des tests Vidas, Liaison, Architect et Platelia sont comprises entre 92,6 à 99,7 % et les sensibilités entre 65 et 97,9 % (17,18). Le risque de résultats faussement positifs Toxo IgM est bien connu et a été discuté dans le cadre de nombreux test commerciaux. Ces faux positifs peuvent correspondre à :

- Des IgM non spécifiques détectées par des tests qui manquent de spécificité (18) = Faux positifs techniques
- Des IgM résiduelles suite à une infection aigue chez un patient immunocompétent (19)
= Vrais positifs techniques mais faux positifs diagnostiques

C'est pourquoi, la présence d'IgM dans le sang ne permet pas de conclure à une infection aiguë sans la réalisation d'examens complémentaires tels que l'avidité des IgG ou le suivi de la cinétique des IgG (11).

3.2. IgG

Chez le nouveau-né, une partie des anticorps IgG sont d'origine maternelle. Les IgG ont une demi-vie de 21 jours. Les méthodes classiques sont incapables de faire la distinction entre ces anticorps IgG transmis par la mère et ceux qui sont des anticorps nouvellement synthétisés par

le nouveau-né. Un western blot comparatif mère-enfant et un suivi sont nécessaires pour confirmer la présence d'anticorps anti-toxoplasme d'origine maternelle ou néosynthétisés, c'est leur négativation au bout de 1 an qui permet d'exclure une toxoplasmose congénitale.

Le critère de sélection d'un réactif pour la détection des IgG chez les nouveau-nés est celui de la sensibilité de détection des séroconversions chez la mère (12). La spécificité diagnostique du test de dépistage des IgG chez le nouveau-né n'est pas informative car elle subit l'impact de la présence des IgG transmises par la mère mais des tests complémentaires sont disponibles (western-blot) pour différencier les anticorps de la mère et du nouveau-né (20).

Murat *et al.* (16) a mené une étude sur sérums de femmes enceintes et de nouveau-nés et a montré :

- Une grande sensibilité de l'Architect par rapport à Vidas et Liaison c'est à dire une capacité de détecter les IgG plus précocement dans les cas de séroconversion. Cette notion est également retrouvée dans les études de Armengol *et al.* (4) et Gay-Andrieu *et al.* (12).
- Conformément à sa meilleure sensibilité le test Architect IgG est resté positif pour les sérums de nouveau-nés sans toxoplasmose congénitale pendant une période plus longue que les deux autres tests dans trois des neuf cas. Le faible effectif n'a pas permis une analyse statistique des résultats.

D'autres nombreuses études, menées cette fois-ci sur des sérums adultes ont permis de montrer que pour la détection des IgG, les systèmes Vidas, Architect, Liaison et Platelia donnent des résultats comparables. La spécificité pour ces tests varie entre 98 à 100 % et la sensibilité entre 95 à 99,6 % (16–18).

Douet *et al.* (21) ont comparés les performances analytiques de 7 réactifs chez des patients immunodéprimés ayant une infection latente et de faibles taux d'IgG anti *Toxoplasma gondii*. Elecsys® (Roche) a montré les meilleurs performances, supérieures à celles d'Architect et Platelia, eux-mêmes supérieurs à Vidas et Liaison qui étaient modérément et non informatif, respectivement, dans la population étudiée.

Évaluation de réactifs commercialisés

1. Contexte

Il existe très peu de tests validés pour la détection des IgG et IgM anti *Toxoplasma gondii* chez le nouveau-né. L'objectif de notre étude était d'évaluer quatre réactifs disponibles sur le marché pour la détection des IgG et IgM afin d'élargir les possibilités diagnostiques chez les nouveau-nés.

Cette étude rétrospective a été réalisée sur sangs de cordon ou sérums post-nataux provenant de 509 enfants dont la mère a effectué une séroconversion au cours de la grossesse. Ces échantillons ont été recueillis sur la période de Janvier 2007 à Février 2021 dans les services de Parasitologie-Mycologie du CHU de Toulouse, CHU de Montpellier et CHU de Nîmes.

Les sérums ont été évalués de manière prospective, lors du diagnostic de routine, pour la présence d'IgG et d'IgM avec au moins un des tests suivants :

- A Montpellier, Nîmes : **Abbott** : AxSYM Toxo IgG® et IgM® puis Architect Toxo IgG® et IgM® sur l'automate dédié (Abbott Laboratories, Wiesbaden, Allemagne) ; **ISAGA** : ISAGA Toxo IgM® test non automatisé (Biomérieux, Marcy l'Etoile, France) ;
- A Toulouse : **Abbott** : tests AxSYM Toxo IgG® et IgM® (2007-2010) puis Architect Toxo IgG® et IgM® (2010-2019) puis Alinity Toxo IgG® et IgM® sur l'automate dédié (Abbott Laboratories, Wiesbaden, Allemagne) ; **Platelia** : tests Platelia Toxo IgG® et Platelia Toxo IgM® sur un automate Evolis (BioRad, Marnes La Coquette, France).

Pour tous les échantillons, en fonction du volume résiduel, les données manquantes ont été complétées rétrospectivement avec les tests suivants :

- A Montpellier : **ISAGA** : ISAGA Toxo IgM® ;

- A Toulouse : **Abbott** : Alinity Toxo IgG® et Alinity Toxo IgM® sur un automate Alinity (Abbott Laboratories, Wiesbaden, Allemagne) ; **Platelia** : Platelia Toxo IgG® et Platelia Toxo IgM® sur un automate Evolis ; **Vidas** : Vidas Toxo IgG II® et Vidas Toxo IgM® sur un automate mini Vidas (Biomérieux, Marcy l'Etoile, France) ; **Liaison** : Liaison Toxo IgG II® et Liaison Toxo IgM® sur un automate Liaison XL (DiaSorin, Saluggia, Italie)

2. Etude expérimentale

Congenital Toxoplasmosis: Performance of Four Automated Assays against Gold-standard for the Detection of IgG and IgM in Newborns at Birth

Marine Avignon,¹ Maude Lévêque,² Emilie Guemas,¹ Milène Sasso,³ Sahar Albaba,² Laurence Lachaud,² Judith Fillaux¹

¹Service de Parasitologie-Mycologie, Université Toulouse 3, Centre Hospitalier Universitaire de Toulouse, France

²Département de Parasitologie-Mycologie, Université de Montpellier, Centre Hospitalier Universitaire de Montpellier, France

³Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Centre Hospitalier Universitaire de Nîmes, France.

ABSTRACT For postnatal diagnosis of congenital toxoplasmosis, the gold-standard for the detection of anti-*Toxoplasma* IgM in newborns relies on ISAGA® assay manufactured from whole *Toxoplasma* parasite that become difficult to maintain. For IgG, only one assay provides, on its manufacturer's notice, the "validate on cord blood" mention allowing its use in this context. We compared the analytical performance of four commercialized automated assays, Platelia, Abbott, Vidas and Liaison, for the detection of IgG and IgM in cord blood or peripheral blood of newborns from women infected during pregnancy. The assays were performed on excess samples of 509 newborns, included from the university hospitals of Montpellier, Nîmes and Toulouse. For IgM, the four assays appeared to be sufficiently informative to be used for congenital toxoplasmosis diagnosis (AUC>0.8, ROC analysis), with Platelia showing the best performances, similar to ISAGA for the accuracy (83%). For Vidas (76%), Abbott (75%) and Liaison (74%), the accuracy was significantly lower. Maternal treatment decreased significantly the sensitivity of all the assays. For IgG, the four evaluated assays showed a sensitivity greater than 90% with Abbott (95%) and Liaison (94%) exhibiting a significantly higher sensitivity than Platelia (90%). Furthermore, Abbott showed its superiority in the cases of maternal infection of the third trimester. In the context of newborns of mothers infected by *Toxoplasma gondii* during pregnancy, to ensure efficient care, Platelia and Abbott seemed to be the most suitable to relay the reference tests for the detection of IgM for the first one and IgG for the second.

KEYWORDS Congenital toxoplasmosis, IgM, IgG, immunodiagnosis, postnatal diagnosis, *Toxoplasma gondii*, newborns

Toxoplasmosis is a zoonotic infection that may cause a large spectrum of clinical diseases. Generally asymptomatic, infection with *Toxoplasma gondii* during pregnancy can cause severe symptoms or sequelae or have fatal consequences for the fetus (1). In France, a national program for prevention has been

set up to prevent congenital toxoplasmosis; this program provides prophylactic recommendations and monthly serological monitoring (IgG and IgM) in nonimmune pregnant women (2). Despite this, almost 0.02% of the newborns presented with congenital toxoplasmosis in 2018, in France (3). In about 10% of cases, neonates present with a proven toxoplasmosis at birth, despite a negative prenatal diagnosis, and in about 30% of cases, prenatal diagnosis is not performed because of late infection during gestation (4). Therefore, postnatal diagnosis is essential to diagnose infected neonates and start treatment, as recommended (5-7). Postnatal diagnosis relies on a combination of several methods: parasite detection on amniotic fluid or placenta collected during delivery, cord blood or newborn blood, by PCR and/or serological screening (detection of neosynthesized IgG, IgM or IgA) (7, 8). To minimize the risk of mother-to-child transmission, an anti-parasitic treatment is initiated, as soon as the maternal contamination is established, and pursued until delivery. This strategy has an impact on the serological screening of the newborn lowering the sensitivity of the tests (9). In this context, it appears that serological assays used have to be highly efficient to avoid false negative results and allow early treatment of the newborn and then minimize the risk of complications (10). Currently, the gold-standard test for detection of anti-*Toxoplasma* IgM in newborns relied on non-automated immunocapture assay manufactured from a *Toxoplasma* tachyzoites suspension (ISAGA®) (11). This kind of process becomes difficult to maintain and evaluation of other commercialized automated tests is required to preserve efficient care. Concerning the detection of IgG in newborn, only one assay provides, on its manufacturer's notice, the "validate on blood cord" mention allowing its use in this context. The main of this study was to evaluate the analytic performances of four commercialized automated assays, for the detection of IgG and IgM on cord blood or newborn blood, of child born from women who contracted toxoplasmosis during pregnancy.

MATERIALS AND METHODS

Ethics. All routine analyses were performed during routine workup as implemented in the two participating centers. The evaluated methods were performed retrospectively on sample excess. Data were recorded anonymously. The study design was approved by the local committees of University Hospitals of Toulouse/Montpellier and Nîmes (approval number 210361/210600)

Patients and samples. All congenitally infected infants diagnosed since January 2007 to February 2021 in the two laboratories (Département de Parasitologie-Mycologie, CHU Montpellier, Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, CHU Nîmes and Service de Parasitologie-Mycologie, CHU Toulouse) were retrospectively included if a cord blood sample or a peripheral blood sample had been analyzed. Diagnosis of congenital toxoplasmosis relied on a positive prenatal diagnosis (parasite DNA detection by qPCR on amniotic fluid) and/or detection of specific IgM or IgA in peripheral blood, positive *Toxoplasma* qPCR in peripheral blood, detection of neosynthesized IgG or IgM by western-blot, or non-negativity of IgG assay after a one-year follow-up. As a control, toxoplasmosis-free children from per-partum infected mothers were randomly selected. The absence of congenital toxoplasmosis was confirmed by IgG loss after one year of follow-up.

Laboratory investigation. Sera were prospectively assessed for the presence of IgG and IgM with at least one of the following assays: 1) in Montpellier - AxSYM Toxo IgM® and IgG® and then Architect Toxo IgG® and IgM® assays on the related automated analyzer (Abbott Laboratories, Wiesbaden, Germany), ISAGA Toxo IgM® non-automated test (Biomérieux, Marcy l'Etoile, France); 2) in Toulouse - AxSYM Toxo IgM® and IgG® and then Architect

Toxo IgG[®] and IgM[®] on the related automated analyzer (Abbott Laboratories, Wiesbaden, Germany), Platelia Toxo IgG[®] and Toxo IgM[®] tests on the automated analyzer Evolis (BioRad, Marnes La Coquette, France). Samples were frozen at -20°C until further analyses.

For all sample, depending on the residual volume, missing data were completed retrospectively: 1) In Montpellier with ISAGA Toxo IgM[®]; 2) In Toulouse with Alinity Toxo IgG[®] and Toxo IgM[®] assays on the automated analyzer Alinity (Abbott Laboratories, Wiesbaden, Germany), Liaison Toxo IgG II[®] and Liaison Toxo IgM[®] on the automated analyser Liaison XL (DiaSorin, Saluggia, Italy), Vidas Toxo IgG II[®] and IgM[®] on the automated analyser mini Vidas (Biomérieux, Marcy l'Etoile, France) and Platelia Toxo IgG[®] and IgM[®] tests on the automated analyzer Evolis.

TABLE 1 IgG / IgM cut-off values recommended by the manufacturers

Assays	IgG			IgM		
	Negative	Grey zone	Positive	Negative	Grey zone	Positive
Abbott	<1.6	1.6 ≤ x <3	≥3	<0.5	0.5 ≤ x <0.6	≥0.6
Platelia	<6	6 ≤ x <9	≥9	<0.8	0.8 ≤ x <1	≥1
Vidas	<4	4 ≤ x <8	≥8	<0.55	0.55 ≤ x <0.65	≥0.65
Liaison	<7.2	7.2 ≤ x <8.8	≥8.8	<6	6 ≤ x <8	≥8
ISAGA				<3		≥3

TABLE 2 Description of the population

Characteristics	N (%)
Biological test allowing CT diagnosis (N=289)	
Antenatal amniotic liquid PCR	120 (41.5)
Blood PCR/Mouse Inoculation	60 (20.8)
IgM/IgG neosynthesis on cord blood	35 (12.1)
IgM/IgA synthesis on peripheral blood	66 (22.8)
Increased IgG	8 (2.8)
Date of maternal seroconversion (N=509)	
Periconceptual	51 (10.0)
1 st Trimester	68 (13.4)
2 nd Trimester	164 (32.2)
3 rd Trimester	173 (34.0)
Childbirth	36 (7.1)
Postpartum	2 (0.4)
Unknown	15 (2.9)
Maternal Treatment (N=509)	
None	63 (12.4)
Spiramycine alone	260 (51.1)
Malocide/Adiazine (preceded or not by spiramycine)	106 (20.8)
Treatment (no information on which one)	5 (1)
No information	75 (14.7)
Sample Origin (N=509)	
Cordon blood	413 (81.2)
Peripheral blood	96 (18.8)

All tests were performed as instructed by the manufacturers. Cutoff values for IgG or IgM detection used to interpret the results were those recommended by the manufacturers (Table 1). For easier understanding, since several studies including local ones (data not shown) have asserted an equivalence between AxSYM and Architect Toxo assays on one hand (12, 13), and Architect and Alinity Toxo assays on the other hand (14), these assays were renamed Abbott Toxo IgG and IgM assays. All immunoassays report the tests results in IU/mL for IgG and index for IgM.

Statistical analysis. The characteristics of the studied population were described using percentages and median along with interquartile ranges instead of means and standard deviations when distributions were found to be non-Gaussian. Screening tests were evaluated against the final diagnosis of congenital toxoplasmosis. A diagnostic sensitivity, specificity and accuracy calculation was performed on all the sera included in the study. The analysis of the results was done using Receiving Operating Characteristic (ROC) curves. The results of sensitivity, specificity and accuracy were compared using a test of equality of proportions. The areas under the ROC curves (AUC) were compared by a χ^2 test. The threshold of significance was set at 5%. All statistical tests and procedures were performed using the Intercooled Stata 9.2 statistical package (StataCorp, College Station, TX).

RESULTS

Description of population, samples and dosages. From 2007 January 1st to 2021 January 31, in the Toulouse, the Montpellier and the Nîmes university hospitals, 289 congenital toxoplasmosis (CT) were diagnosed. Among these patients, 120 presented at least a positive parasite DNA detection by qPCR on amniotic fluid. As control group, 220 toxoplasmosis-free children from per-partum infected mothers were randomly selected. Table 2 shows the criteria that allowed the diagnosis confirmation of CT, the trimester of pregnancy at the time of infection, the women treatment and the origin of newborn sample. According to residual volume, for IgG dosage, 447 sera were assessed with Abbott and Platelia, 309 with Vidas and Liaison. For IgM dosage, 446 sera were assessed with ISAGA, 432 with Platelia, 384 with Abbott, 357 with Vidas and 308 with Liaison.

Analytical Performance of IgM. In Table 3, specificity, sensitivity and accuracy of the IgM assays were assessed for each reagent at the suppliers' thresholds. Predictive positive value (PPV) and negative predictive value (NPV) were not informative results because of the very little prevalence (0,02% (3)) of the disease. The doubtful values were considered positive ones. For Platelia, the sensitivity, the specificity and the accuracy were not different from ISAGA. For Abbott and Liaison, the accuracy and the sensitivity of the tests were significantly lower than ISAGA ($p < 0.001$), however the specificity was significantly higher ($p < 0.001$). For Vidas, compared to ISAGA, the test showed a trend to a lower accuracy but the difference was not significant ($p = 0.064$); the sensitivity was significantly lower ($p < 0.001$) and the specificity significantly higher ($p < 0.001$). Analyzing the population by sample origin subgroup, for peripheral blood sample (Table 3), the specificity of all tests was 100%, meaning that there were no false positive results. The sensitivity of the tests was significantly lower for Abbott, Vidas and Liaison than ISAGA and Platelia. On cord blood, positive results were found in the control group more often with Platelia and ISAGA than with the other tests which explain their lower specificity. For all the tests including ISAGA, the anti-*Toxoplasma* maternal treatment was associated with a decrease in the sensitivity for the detection of the IgM in newborns at birth (Table 3).

TABLE 3 Overall relative sensitivity, specificity, accuracy by testing samples for anti-*Toxoplasma* IgM, impact of maternal treatment and sample origin

Assays	Groups	Sensitivity % [95% CI]	Specificity % [95% CI]	Accuracy %	p*
ISAGA	All (n=446)	73.26 [69.15-77.36]	90.96 [88.30-93.62]	80.71	1 ^a
	Peripheral blood (n=62)	82.35 [72.86-91.84]	100		1 ^b
	Treated (n=333)	68.91 [63.94-73.88]	92.86 [90.09-95.62]		0.006 ^c
	Non-treated (n=42)	87.50 [77.50-97.50]	70.00 [56.14-83.86]		
Platelia	All (n=432)	75.63 [71.58-79.68]	92.78 [90.34-95.22]	83.33	0.312 ^a
	Peripheral blood (n=59)	80.49 [70.38-90.60]	100		0.792 ^b
	Treated (n=319)	71.91 [66.98-76.84]	94.33 [91.79-96.86]		0.005 ^c
	Non-treated (n=49)	88.89 [80.09-97.69]	92.78 [90.34-95.22]		
Abbott	All (n=384)	55.77 [50.80-60.74]	97.16 [95.50-98.82]	75.00	0.024 ^a
	Peripheral blood (n=36)	64.29 [48.63-79.94]	100		0.022 ^b
	Treated (n=291)	52.17 [46.43-57.91]	96.92 [94.94-98.91]		0.042 ^c
	Non-treated (n=32)	68.18 [52.04-84.32]	100		
Vidas	All (n=357)	58.25 [53.13-63.36]	97.55 [95.94-99.15]	76.19	0.064 ^a
	Peripheral blood (n=28)	59.09 [40.88-77.30]	100		0.009 ^b
	Treated (n=272)	54.30 [48.38-60.22]	98.35 [96.83-99.86]		0.015 ^c
	Non-treated (n=30)	75.00 [59.51-90.49]	90.00 [79.26-100.00]		
Liaison	All (n=308)	52.73 [47.15-58.30]	97.9 [96.30-99.50]	73.70	0.011 ^a
	Peripheral blood (n=25)	44.44 [24.97-63.92]	100		<0.001 ^b
	Treated (n=246)	50.72 [44.48-56.97]	100		0.010 ^c
	Non-treated (n=21)	76.92 [58.90-94.94]	87.50 [73.36-100.00]		

Sensitivity TP/(TP+FN), specificity TN/(TN+FP), accuracy (TP+TN)/(TP+TN+FP+FN)

*test of equality of proportions for accuracy on overall samples^a, for sensitivity on peripheral blood between the assays^b, for sensitivity between treated and non-treated mothers^c

TABLE 4 Overall relative sensitivity, specificity and accuracy by testing samples for anti-*Toxoplasma* IgG and impact of maternal infection (MI) date

Assays	Groups	Sensitivity % [IC à 95%]	Specificity % [IC à 95%]	Accuracy %	p*
Platelia	All (n=447)	90.20 [87.44-92.95]	4.69 [2.73-6.65]	53.47	1 ^a
	MI < T3 (n=244)	100			<0.001 ^b
	MI ≥ T3 (n=188)	84.94 [79.85-90.03]			
Abbott	All (n=447)	95.53 [93.61-97.44]	1.49 [0.37-2.62]	53.24	0.002 ^a
	MI < T3 (n=250)	98.81 [97.47-100]			<0.001 ^b
	MI ≥ T3 (n=182)	93.71 [90.20-97.22]			
Vidas	All (n=309)	92.12 [89.12-95.13]	4.17 [1.94-6.39]	51.13	0.182 ^a
	MI < T3 (n=197)	100			<0.001 ^b
	MI ≥ T3 (n=108)	86.32 [79.83-92.80]			
Liaison	All (n=309)	93.98 [91.32-96.63]	4.20 [1.96-6.43]	52.43	0.033 ^a
	MI < T3 (n=195)	91.74 [89.04-94.45]			0.654 ^b
	MI ≥ T3 (n=110)	90.72 [85.30-96.14]			

Sensitivity TP/(TP+FN), specificity TN/(TN+FP), accuracy (TP+TN)/(TP+TN+FP+FN)

*test of equality of proportions for sensitivity on overall samples^a, for sensitivity according to maternal infection date^b, for sensitivity between the assays when maternal infection occurred in the third trimester^c

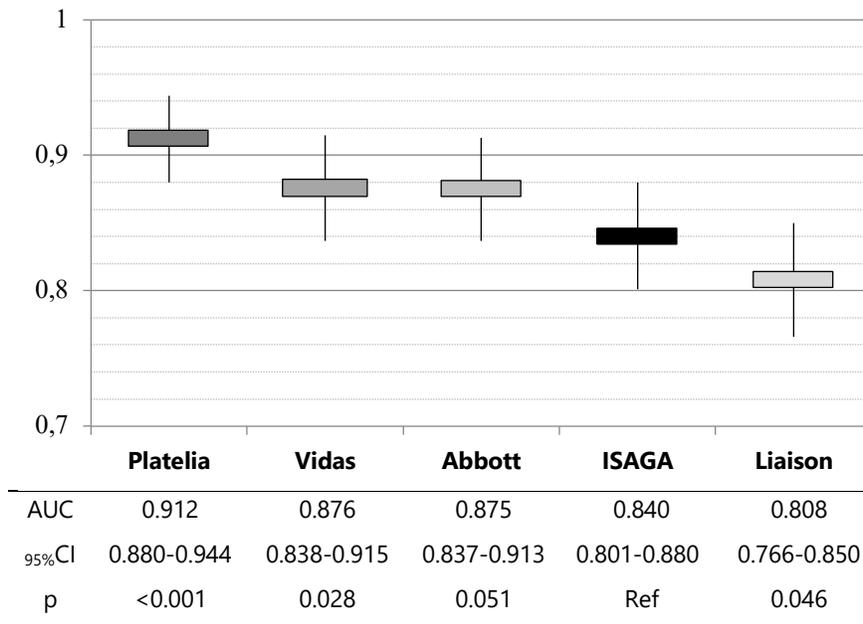
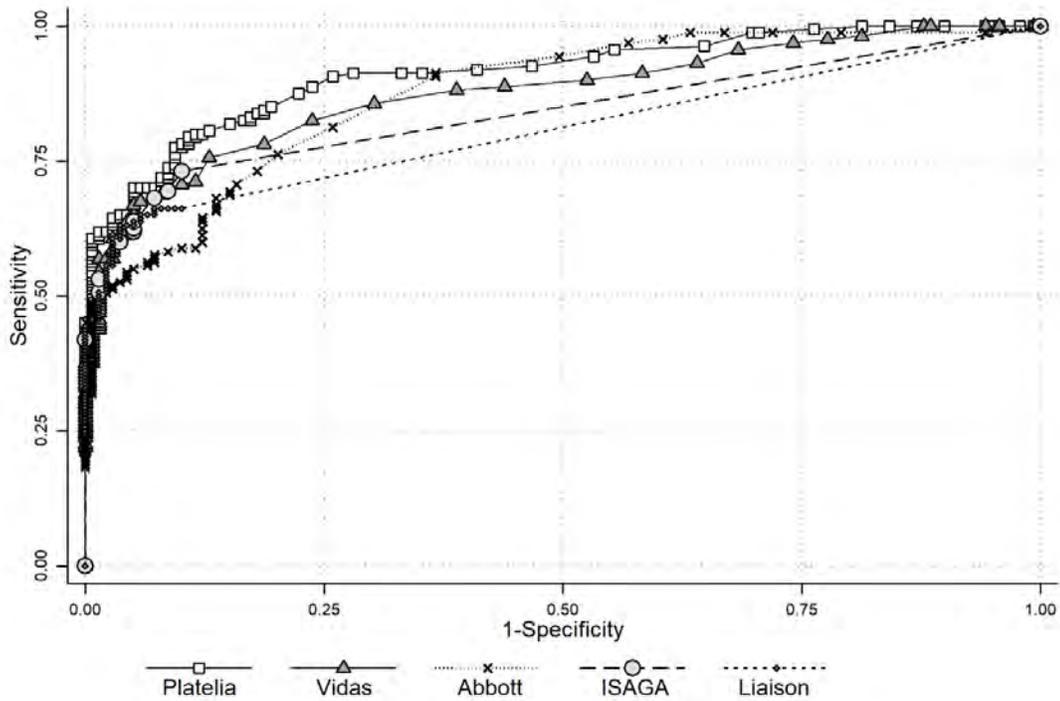
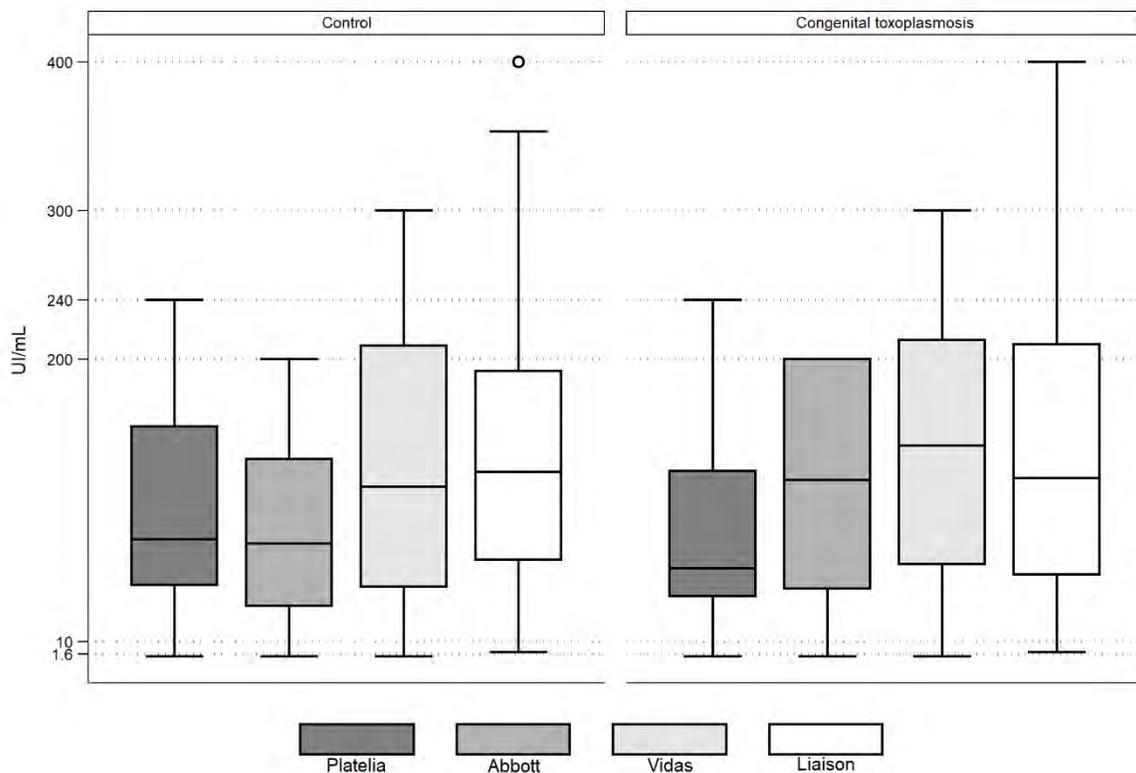


FIGURE 1 Areas under Receiving Operator Curves for each IgM assay and comparison (χ^2 test) of analytic performances (N=299)

As shown in Figure 1, only one of the five tested reagents was very informative ($AUC \geq 0.9$). Platelia had the largest AUC, which was significantly higher than ISAGA ($p < 0.001$). Its optimal threshold could be 0,42 with a sensitivity of 84.45%, a specificity of 87.11%, for 85.65% of correctly classified infants (accuracy). At this new threshold, Platelia accuracy was significantly higher than ISAGA ($p = 0.025$). Vidas was moderately informative ($AUC < 0.9$) but better than ISAGA ($p = 0.028$). Its optimal threshold could be 0,25 with a

sensitivity of 71.65%, a specificity of 90.80%, for 80.39% of correctly classified infants (accuracy). At this new threshold, Vidas accuracy became similar to that of ISAGA. Abbott performance only showed a trend to be better than ISAGA ($p=0.051$). Liaison while acceptable, showed significantly lower performance than ISAGA ($p=0.046$). For Abbott and Liaison, modulation of the thresholds did not significantly improve their accuracy.

Analytical Performances of IgG. Figure 2 shows the distribution of IgG values according to manufacturer thresholds. A significant difference in the range of IgG values was observed for Platelia and Abbott reagent between the CT (CT+) and the control group (CT-). Platelia showed higher values in the control group versus the CT group ($p=0.008$) whereas it was the opposite for Abbott ($p<0.001$). No differences between groups were observed for the Vidas and Liaison reagents ($p>0.05$).



Assays	Platelia		Abbott		Vidas		Liaison	
	CT- n=192	CT+ n=255	CT- n=201	CT+ n=246	CT- n=144	CT+ n=165	CT- n=143	CT+ n=167
Med	78.9	59.6	76.1	118.6	114	142	124	120
[IQR]	[47.9-154.6]	[40.4-124.9]	[33.5-132.6]	[45.2-200]	[46.5-209]	[62-213]	[64.6-192]	[54.7-210]
p*	0.008		<0.001		0.480		0.670	

FIGURE 2 Distribution of IgG values according to the different methods

*Kruskal-Wallis equality-of-populations rank test

In Table 4, specificity, sensitivity and accuracy of the IgG assays were assessed for each reagent at suppliers' thresholds. As seen for IgM detection, PPV and NPV were not informative results because of the very little prevalence of the disease. The doubtful values were considered positive ones. In comparison

to Platelia, the only one to be validated on blood cord sample at the moment, Abbott and Liaison gave better results in term of sensitivity ($p=0.002$ and $p=0.033$, respectively). The Vidas sensitivity result was comparable to Platelia. The accuracy and specificity results were not informative since maternal IgG are passively transmitted to child. Regarding the time of mother infection (Table 4), except for Liaison, the sensitivity of the tests at birth was significantly better in infection that occurred during both first and second trimesters than at third trimester. Considering the group of the mother infected during the third trimester of pregnancy, only Abbott exhibited a better sensitivity than Platelia for the detection of IgG in newborns.

DISCUSSION

This study presents a comparison of the analytical performances of four reagents for the detection of anti-*Toxoplasma gondii* IgG and IgM in a large cohort of newborns from women infected with *Toxoplasma gondii* during pregnancy. Among the large number of publications on toxoplasmosis immunodiagnostic, very few data are available on newborns specifically.

All of the evaluated assays are known to be effective for the detection of *T. gondii* IgG and IgM, with very good sensitivity and specificity, called technical sensitivity and specificity. These technical performances must be differentiated from the diagnostic ones. In the context of congenital toxoplasmosis, several pitfalls have an impact on these technical performances. First, the presence of IgG in the toxoplasmosis-free newborns due to maternal passive transmission is not a technical false positive, but it decreases the diagnostic specificity of the tests. In the same way, the detection of maternal IgM in the cord blood of a healthy newborn, due to contamination that may occurred during delivery, is not a false positive result but it has an impact that decreases the diagnostic specificity of the tests. For these reasons, to avoid confusion, we specify that we will be talking about diagnostic performances until the end of the discussion.

For IgM, since their detection on the newborn peripheral blood assert congenital toxoplasmosis diagnosis, high sensitivity and specificity of the assays are expected to avoid misdiagnosis and, late or unwarranted treatments. In our study, at suppliers' thresholds, except for Platelia, the accuracy of the evaluated assays was lower (Abbott and Liaison) or trend to be lower (Vidas) than ISAGA whereas the doubtful values were included in the positive values. From their AUC profiles, ISAGA, Platelia, Abbott, Liaison and Vidas Toxo IgM appeared to exhibit sufficient global performances to be routinely used for congenital toxoplasmosis diagnosis. However, Platelia and Vidas with an AUC around 0.9 showed diagnostic global performances that were significantly superior to that of ISAGA. Modifying the threshold of the tests, the accuracy of Platelia (threshold at 0.42) was significantly higher than ISAGA, and the accuracy of Vidas (threshold at 0.25) joined that of ISAGA. Abbott and Liaison were similar to ISAGA or less informative, respectively, without improvement by threshold variation. As shown by Murat *et al.* (15), regarding peripheral blood only, for any assays including ISAGA, there was no false positive IgM. The high sensitivity of ISAGA and Platelia probably led to the detection of low level of maternal IgM in cord blood which had been contaminated during delivery that enhance the value of the comparative western-blot to

differentiate neosynthesized antibodies by the newborn from maternal ones. In the study of Murat *et al.* (15), conducted on pregnant women and newborns, Liaison, Abbott and Vidas exhibited excellent performances for the detection of IgM but they were not compared to ISAGA, and the little number of subjects did not allow an analysis for the newborns' subgroup. As shown by Guegan *et al.* (9), maternal anti-*Toxoplasma* treatment during pregnancy was associated with reduced sensitivity of the IgM assays for the diagnosis of congenital infection in the newborns. In our study, all the tests were impacted by treatment whereas Platelia was not in the study of Guegan. As the sensitivity figures are really different between the two studies, it is delicate to make assumptions on this point.

For IgG, in most cases, the detected IgG in the newborn are mother-to-child transmitted IgG. To exclude the contamination of a child born from a per-partum infected women, IgG have to be null at one year of life without anti-*Toxoplasma* treatment. At birth, the real goal, for IgG, is to differentiate maternal transmitted IgG from newborn neo-synthesized IgG. At the moment, this can't be done with the available automated immunoassays and only the commercialized immunoblot from LDBio® allows this comparison. For the automated assays, high sensitivity is expected to avoid wrong exclusion of congenital toxoplasmosis at the one-year-old of the child. In our study, the four evaluated assays have shown sensitivities above 90%. Abbott and Liaison Toxo IgG exhibited a significantly higher sensitivity than Platelia, the reference test. There was no difference between Vidas and Platelia. Several studies (12, 15, 16) have shown that times before IgG detection during seroconversion, in pregnant women, were significantly different between the automated assays, with a significant advantage for Abbott. In our study, the better sensitivity of Abbott, when infection occurred at the third trimester of pregnancy leading to an absence or a very low IgG level at the moment of blood sampling in the newborn, could be explained by the antigenic composition of the assay. In these cases, Abbott could allow an earlier detection of neo-synthesized IgG. The performances of the assays were not followed over an enough-long period to allow conclusion about their sensitivity at one year of life. In neonates of women infected during pregnancy, the mother-to-child transmitted IgG are from recent infection even if detection is performed at one year of age; that could explain why Murat *et al.* (15) have shown in their study that Abbott detected IgG in infant longer than Vidas or Liaison. The performances of the assays at this age should be the same as at birth. A further study on IgG kinetics has to be performed to clarify this point.

In conclusion, even if all the tests present satisfactory global performances for the detection of IgM as well as IgG, Platelia and Abbott seem to be the most suitable to relay the reference tests for the detection of IgM for the first one and IgG for the second in the context of newborns of mothers infected by *Toxoplasma gondii* during pregnancy. For the IgG, this must be confirmed by a one-year follow-up study to validate the accuracy of the test in non-infected children. As many investigators have already stated, on many occasions (17, 18), regardless of the assay chosen, IgG kinetic must be followed with the same test in the same laboratory to avoid misinterpretation.

ACKNOWLEDGMENTS

We acknowledge C. Paris, D. Gregoire, E. Bonin from the Service de Parasitologie-Mycologie, CHU Toulouse, France, and S. Douzou, P. Gasq et F. Joullie from the Département de Parasitologie-Mycologie, CHU Montpellier for their technical support.

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

REFERENCES

1. Weiss LM, Dubey JP. 2009. Toxoplasmosis: A history of clinical observations. *Int J Parasitol* 39:895-901.
2. Villena I, Ancelle T, Delmas C, Garcia P, Brezin AP, Thulliez P, Wallon M, King L, Goulet V, Toxosurv n, National Reference Centre for T. 2010. Congenital toxoplasmosis in France in 2007: first results from a national surveillance system. *Euro Surveill* 15.
3. Dubey JP, Murata FHA, Cerqueira-Cezar CK, Kwok OCH, Villena I. 2021. Congenital toxoplasmosis in humans: an update of worldwide rate of congenital infections. *Parasitology* 148:1406-1416.
4. Robert-Gangneux F, Dupretz P, Yvenou C, Quinio D, Poulain P, Guiguen C, Gangneux JP. 2010. Clinical relevance of placenta examination for the diagnosis of congenital toxoplasmosis. *Pediatr Infect Dis J* 29:33-8.
5. Maldonado YA, Read JS, Committee On Infectious D. 2017. Diagnosis, Treatment, and Prevention of Congenital Toxoplasmosis in the United States. *Pediatrics* 139.
6. Moncada PA, Montoya JG. 2012. Toxoplasmosis in the fetus and newborn: an update on prevalence, diagnosis and treatment. *Expert Rev Anti Infect Ther* 10:815-28.
7. Peyron F, L'Ollivier C, Mandelbrot L, Wallon M, Piarroux R, Kieffer F, Hadjadj E, Paris L, Garcia-Meric P. 2019. Maternal and Congenital Toxoplasmosis: Diagnosis and Treatment Recommendations of a French Multidisciplinary Working Group. *Pathogens* 8.
8. Pinon JM, Dumon H, Chemla C, Franck J, Petersen E, Lebech M, Zufferey J, Bessieres MH, Marty P, Holliman R, Johnson J, Luyasu V, Lecolier B, Guy E, Joynson DH, Decoster A, Enders G, Pelloux H, Candolfi E. 2001. Strategy for diagnosis of congenital toxoplasmosis: evaluation of methods comparing mothers and newborns and standard methods for postnatal detection of immunoglobulin G, M, and A antibodies. *J Clin Microbiol* 39:2267-71.
9. Guegan H, Stajner T, Bobic B, Press C, Olariu RT, Olson K, Srbljanovic J, Montoya JG, Djurkovic-Djakovic O, Robert-Gangneux F. 2021. Maternal Anti-*Toxoplasma* Treatment during Pregnancy Is Associated with Reduced Sensitivity of Diagnostic Tests for Congenital Infection in the Neonate. *J Clin Microbiol* 59.
10. Pomares C, Montoya JG. 2016. Laboratory Diagnosis of Congenital Toxoplasmosis. *J Clin Microbiol* 54:2448-54.
11. Desmonts G, Naot Y, Remington JS. 1981. Immunoglobulin M-immunosorbent agglutination assay for diagnosis of infectious diseases: diagnosis of acute congenital and acquired *Toxoplasma* infections. *J Clin Microbiol* 14:486-91.
12. Gay-Andrieu F, Fricker-Hidalgo H, Sickinger E, Espern A, Brenier-Pinchart MP, Braun HB, Pelloux H. 2009. Comparative evaluation of the ARCHITECT Toxo IgG, IgM, and IgG Avidity assays for anti-*Toxoplasma* antibodies detection in pregnant women sera. *Diagn Microbiol Infect Dis* 65:279-87.
13. Villard O, Cimon B, L'Ollivier C, Fricker-Hidalgo H, Godineau N, Houze S, Paris L, Pelloux H, Villena I, Candolfi E. 2016. 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* 54:3034-3042.
14. Nam M, Song DY, Song SH, Roh EY, Shin S, Park KU, Song EY. 2021. Performance evaluation of immunoassay for infectious diseases on the Alinity i system. *J Clin Lab Anal* 35:e23671.
15. Murat JB, Dard C, Fricker Hidalgo H, Darde ML, Brenier-Pinchart MP, Pelloux H. 2013. 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 20:1203-12.

16. Armengol C, Cassaing S, Roques-Malecaze C, Chauvin P, Iriart X, Berry A, Fillaux J. 2017. Time before anti-*Toxoplasma* IgG seroconversion detection by 7 commercial assays in French pregnant women. Diagn Microbiol Infect Dis 87:103-107.
17. Murat JB, Hidalgo HF, Brenier-Pinchart MP, Pelloux H. 2013. Human toxoplasmosis: which biological diagnostic tests are best suited to which clinical situations? Expert Rev Anti Infect Ther 11:943-56.
18. Saadatnia G, Golkar M. 2012. A review on human toxoplasmosis. Scand J Infect Dis 44:805-14.

3. Résultats et discussion

Cette étude présente une comparaison des performances analytiques de quatre réactifs pour la détection d'IgG et IgM anti-*Toxoplasma gondii* dans une large cohorte de nouveau-nés de femmes infectées par *Toxoplasma gondii* pendant la grossesse. De nombreuses méthodes sont disponibles sur le marché pour la détection des anticorps IgG et IgM. Cependant très peu de données sont disponibles chez les nouveau-nés.

3.1. Limites

Une des limites de notre étude était l'impossibilité de réaliser la totalité des dosages sur tous les échantillons en raison du volume limité des sérums résiduels. Par ailleurs du fait de la prévalence, très faible, de la maladie, les résultats de VPP et VPN étaient non exploitables.

Tous les tests évalués sont connus pour être hautement performant dans la détection des IgG et IgM de *T. gondii*, avec de très bonnes sensibilités et spécificités, qui peuvent être qualifiées de sensibilité et spécificité techniques. Ces performances techniques doivent être différenciées des performances diagnostiques. Dans le contexte de la toxoplasmose congénitale, plusieurs éléments ont un impact sur ces performances techniques. Tout d'abord, la présence d'IgG chez les nouveau-nés exempts de toxoplasmose en raison de la transmission passive maternelle n'est pas un faux positif technique, mais elle diminue la spécificité diagnostique des tests. De la même manière, la détection d'IgM maternelles dans le sang du cordon d'un nouveau-né sain, en raison d'une contamination qui peut avoir eu lieu pendant l'accouchement, n'est pas un faux positif, mais elle a un impact qui diminue la spécificité diagnostique des tests. Pour ces raisons, afin d'éviter toute confusion, nous précisons que nous parlerons de performances diagnostiques jusqu'à la fin de la discussion.

3.2. IgM

L'une des caractéristiques les plus importantes attendue des tests IgM pour le dépistage des nouveau-nés est l'absence de résultats faussement négatifs qui pourraient conduire à un défaut ou un retard de diagnostic et donc de traitement et de suivi clinique et biologique du nouveau-né. Le nombre de faux positif doit également être faible afin d'éviter la mise en place d'un traitement non dénué d'effets indésirable chez des enfants non malades. La sensibilité et la spécificité doivent donc être aussi élevées que possible. Dans notre étude, aux seuils des fournisseurs, excepté pour Platelia, la précision des tests évalués, c'est-à-dire la capacité à classer correctement un patient, malade / non malade, était inférieure à celle d'ISAGA alors que les valeurs douteuses étaient incluses dans les valeurs positives. D'après leurs profils de courbes ROC, ISAGA, Platelia, Abbott, Liaison et Vidas Toxo IgM semblaient présenter des performances globales suffisantes pour être utilisés en routine pour le diagnostic de la toxoplasmose congénitale. Cependant, Platelia et Vidas, avec une AUC autour de 0,9, ont montré des performances globales de diagnostic significativement supérieures à celles d'ISAGA. En modifiant le seuil des tests, la précision de Platelia (seuil à 0,42) était significativement supérieure à celle d'ISAGA, et la précision de Vidas (seuil à 0,25) rejoignait celle d'ISAGA. Abbott et Liaison étaient respectivement similaires à ISAGA ou moins informatifs, sans amélioration lors de la modification du seuil.

Comme dans notre étude, l'étude de Murat et al (16) n'a observé aucun faux positif sur sang périphérique chez les nouveau-nés indemnes toxoplasmose congénitale. La haute sensibilité d'ISAGA et de Platelia a probablement conduit à la détection d'un faible taux d'IgM maternelles dans le sang de cordon qui avait été contaminé lors de l'accouchement. L'intérêt de l'utilisation du western-blot comparatif pour différencier les IgM de la mère et les IgM néosynthétisées par l'enfant est alors indubitable. Dans la même étude, Murat et al (16) a comparé la performance de Vidas à Liaison et Architect sur des sérums de femmes enceintes et de nouveau-nés. Cette

étude a montré d'excellentes performances pour la détection des IgM mais il n'y avait pas de données comparatives avec ISAGA. Par ailleurs, le faible effectif de l'échantillon n'a pas permis de le confirmer statistiquement dans le groupe des nouveau-nés.

Comme l'ont montré Guegan *et al.* (9), le traitement anti-*Toxoplasma* maternel pendant la grossesse était associé à une sensibilité réduite des tests IgM pour le diagnostic de l'infection congénitale chez les nouveau-nés. Dans notre étude, tous les tests ont été impactés par le traitement alors que Platelia ne l'était pas dans l'étude de Guegan. Comme les chiffres de sensibilité retrouvés pour Platelia sont vraiment différents entre les deux études, il est délicat de faire des hypothèses sur ce point.

3.3. IgG

La détection des IgG sur sang de cordon ou périphérique est potentiellement, due au passage passif des IgG de la mère au nouveau-né. La négativation des IgG est suivie jusqu'à l'âge d'un an en l'absence de traitement chez l'enfant qui ne présente pas d'argument en faveur d'une contamination. A la naissance, il est impossible de différencier les IgG transmises par la mère des IgG néosynthétisées par le nouveau-né. Seul l'immunoblot commercialisé de LDBio® permet cette comparaison pour le moment. Le but est donc d'avoir un test sérologique très sensible aux IgG pour éviter une fausse négativation de la sérologie, à un an, alors que le patient posséderait un taux d'IgG très bas. Dans notre étude, l'analyse des performances diagnostiques des IgG a montré des sensibilités supérieures à 90 % pour les quatre tests évalués. Liaison (93,9 %) et Abbott (95,5 %) avaient une meilleure sensibilité par rapport au test de référence Platelia (90,2 %). Aucune différence de sensibilité n'a été observée entre Vidas (92,1 %) et Platelia.

Plusieurs études (4,12,16) ont montré une plus grande sensibilité de l'Architect dans le contexte des infections récentes, c'est à dire une capacité à détecter les IgG plus précocement que d'autres tests automatisés. Ceci serait lié aux natures d'antigène utilisé (22). Dans notre étude,

la meilleure sensibilité d'Abbott, lorsque l'infection s'est produite au troisième trimestre de la grossesse entraînant une absence ou un très faible taux d'IgG au moment du prélèvement sanguin chez le nouveau-né, pourrait, donc, s'expliquer par la composition antigénique du test. Dans ces cas, Abbott pourrait permettre une détection plus précoce des IgG néosynthétisées. Chez les nouveau-nés de femmes infectées pendant la grossesse, les IgG transmises de la mère à l'enfant proviennent d'une infection récente même si la détection est effectuée à l'âge d'un an ; cela pourrait expliquer pourquoi Murat *et al.* (14) ont montré dans leur étude qu'Abbott détectait les IgG chez le nourrisson plus longtemps que Vidas ou Liaison. Les performances des tests à cet âge devraient être les mêmes qu'à la naissance. Une autre étude sur la cinétique des IgG doit être réalisée pour clarifier ce point.

Conclusion

Même si tous les tests présentent des performances globales satisfaisantes pour la détection des IgM ainsi que des IgG, Platelia et Abbott semblent être les plus aptes à relayer les tests de référence pour la détection des IgM pour le premier et des IgG pour le second dans le contexte des nouveau-nés de mères infectées par *Toxoplasma gondii* pendant la grossesse. Pour les IgG, cela doit être confirmé par une étude de suivi d'un an pour valider la précision du test chez les enfants non infectés. Comme l'ont déjà indiqué de nombreux chercheurs, à de nombreuses reprises (6,10), quel que soit le test choisi, la cinétique des IgG doit être suivie avec le même test dans le même laboratoire pour éviter toute erreur d'interprétation.

Bibliographie

1. Paquet C, Yudin MH. Toxoplasmose pendant la grossesse : Prévention, dépistage et traitement. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada*. déc 2016;38(12):S189-96.
2. Weiss LM, Dubey JitenderP. Toxoplasmosis: a history of clinical observations. *Int J Parasitol*. 1 juill 2009;39(8):895-901.
3. Pomares C, Montoya JG. Laboratory Diagnosis of Congenital Toxoplasmosis. *J Clin Microbiol*. oct 2016;54(10):2448-54.
4. Armengol C, Cassaing S, Roques-Malecaze C, Chauvin P, Iriart X, Berry A, *et al*. Time before anti-*Toxoplasma* IgG seroconversion detection by 7 commercial assays in French pregnant women. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. févr 2017;87(2):103-7.
5. Guegan H, Stajner T, Bobic B, Press C, Olariu RT, Olson K, *et al*. Maternal Anti- *Toxoplasma* Treatment during Pregnancy Is Associated with Reduced Sensitivity of Diagnostic Tests for Congenital Infection in the Neonate. Pritt BS, éditeur. *J Clin Microbiol*. 18 nov 2020;59(2):e01368-20, /jcm/59/2/JCM.01368-20.atom.
6. Carole G. Haute Autorité de santé. 2017;80.
7. Pouletty P, Kadouche J, Garcia-Gonzalez M, Mihaesco E, Desmots G, Thulliez P, *et al*. An Anti-Human Chain Monoclonal Antibody: Use for Detection of IgM Antibodies to *Toxoplasma gondii* by Reverse Immunosorbent Assay. :10.
8. Desmots G, Naot Y, Remington JS. Immunoglobulin M-immunosorbent agglutination assay for diagnosis of infectious diseases: diagnosis of acute congenital and acquired *Toxoplasma* infections. *J Clin Microbiol*. nov 1981;14(5):486-91.
9. Naot Y, Desmots G, Remington JS. IgM enzyme-linked immunosorbent assay test for the diagnosis of congenital *Toxoplasma* infection. *The Journal of Pediatrics*. janv 1981;98(1):32-6.

10. 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*. 2015;22:22.
11. Murat J-B, Fricker Hidalgo H, Brenier-Pinchart M-P, Pelloux H. Human toxoplasmosis: which biological diagnostic tests are best suited to which clinical situations? *Expert Review of Anti-infective Therapy*. sept 2013;11(9):943-56.
12. Gay-Andrieu F, Fricker-Hidalgo H, Sickinger E, Espern A, Brenier-Pinchart M-P, Braun H-B, *et al.* Comparative evaluation of the ARCHITECT Toxo IgG, IgM, and IgG Avidity assays for anti-*Toxoplasma* antibodies detection in pregnant women sera. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. nov 2009;65(3):279-87.
13. Villard O, Cimon B, Pelloux H, Villena I, Candol E. Serological diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection: Recommendations from the French National Reference Center for Toxoplasmosis. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2016;13.
14. Saadatnia G, Golkar M. A review on human toxoplasmosis. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*. nov 2012;44(11):805-14.
15. Camargo ME, Ferreira AW, Mineo JR, Takiguti CK, Nakahara OS. Immunoglobulin G and immunoglobulin M enzyme-linked immunosorbent assays and defined toxoplasmosis serological patterns. *Infect Immun*. juill 1978;21(1):55-8.
16. 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.
17. 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. Gilligan PH, éditeur. J Clin Microbiol. déc 2016;54(12):3034-42.

18. 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. déc 1997;35(12):3313-5.

19. Liesenfeld O, Press C, Montoya JG, Gill R, Isaac-Renton JL, Hedman K, *et al.* False-Positive Results in Immunoglobulin M (IgM) *Toxoplasma* Antibody Tests and Importance of Confirmatory Testing: the Platelia Toxo IgM Test. J CLIN MICROBIOL. 1997;35:5.

20. Olsen MA, Root PP. Comparison of four different immunoassays for detection of *Toxoplasma*-specific immunoglobulin G. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. mai 1994;19(1):19-24.

21. Douet T, Armengol C, Charpentier E, Chauvin P, Cassaing S, Iriart X, *et al.* Performance of seven commercial automated assays for the detection of low levels of anti- *Toxoplasma* IgG in French immunocompromised patients. Parasite. 2019;26:51.

22. Zhang K, Lin G, Han Y, Li J. Serological diagnosis of toxoplasmosis and standardization. Clinica Chimica Acta. oct 2016;461:83-9.

CONGENITAL TOXOPLASMOSIS: PERFORMANCE OF FOUR AUTOMATED ASSAYS AGAINST GOLD STANDARD FOR THE DETECTION OF IgG AND IgM IN NEWBORNS AT BIRTH

ABSTRACT

For postnatal diagnosis of congenital toxoplasmosis, the gold-standard for the detection of anti-*Toxoplasma* IgM in newborns relies on ISAGA assay manufactured from whole *Toxoplasma* parasite that become difficult to maintain. For IgG, only one assay provides, on its manufacturer's notice, the "validate on cord blood" mention allowing its use in this context. We compared the analytical performance of four commercialized automated assays, Platelia, Abbott, Vidas and Liaison, for the detection of IgG and IgM in cord blood or peripheral blood of newborns from women infected during pregnancy. The assays were performed on excess samples of 509 newborns, included from the university hospitals of Montpellier/Nîmes and Toulouse. For IgM, the four assays appeared to be sufficiently informative to be used for congenital toxoplasmosis diagnosis (AUC>0.8, ROC analysis), with Platelia showing the best performances, similar to ISAGA for the accuracy (83%). For Vidas (76%), Abbott (75%) and Liaison (74%), the accuracy was significantly lower. Maternal treatment decreased significantly the sensitivity of all the assays. For IgG, the four evaluated assays showed a sensitivity greater than 90% with Abbott (95%) and Liaison (94%) exhibiting a significantly higher sensitivity than Platelia (90%). Furthermore, Abbott showed its superiority in the cases of maternal infection of the third trimester. In the context of newborns of mothers infected by *Toxoplasma gondii* during pregnancy, to ensure efficient care, Platelia and Abbott seemed to be the most suitable to relay the reference tests for the detection of IgM for the first one and IgG for the second.

KEYWORDS: Congenital toxoplasmosis, IgG, IgM, immunodiagnosis, postnatal diagnosis, *Toxoplasma*, newborns

Parasitologie-Mycologie, CHU de Toulouse Purpan
Institut Fédératif de Biologie (IFB)
330 Avenue de Grande Bretagne 31059 Toulouse

TOXOPLASMOSE CONGENITALE : COMPARAISON DE QUATRE REACTIFS POUR LA DETECTION D'IgG ET D'IgM CHEZ LES NOUVEAU-NES

Présentée et soutenue publiquement par : AVIGNON Marine

Directeur de thèse : FILLAUX Judith, MCU-PH, Biologiste, Service de Parasitologie-Mycologie, CHU Toulouse

RESUME

Pour le diagnostic postnatal de la toxoplasmose congénitale, le gold-standard pour la détection des IgM anti-*Toxoplasma* chez le nouveau-né repose sur le test ISAGA fabriqué à partir de parasite *Toxoplasma* entier qui devient difficile à maintenir. Pour les IgG, un seul test fournit, sur la notice de son fabricant, la mention « validé sur sang de cordon » permettant son utilisation dans ce contexte. Nous avons comparé les performances analytiques de quatre tests automatisés commercialisés, Platelia, Abbott, Vidas et Liaison, pour la détection des IgG et IgM dans le sang de cordon ou le sang périphérique de nouveau-nés issus de femmes infectées pendant la grossesse. Les tests ont été réalisés sur des échantillons excédentaires de 509 nouveau-nés, provenant des hôpitaux universitaires de Montpellier/Nîmes et de Toulouse. Pour les IgM, les quatre tests semblent être suffisamment informatifs pour être utilisés pour le diagnostic de la toxoplasmose congénitale (AUC>0,8, analyse ROC), Platelia montrant les meilleures performances, similaire à ISAGA pour la précision (83 %). Pour Vidas (76 %), Abbott (75 %) et Liaison (74 %), la précision était significativement plus faible. Le traitement maternel a diminué de manière significative la sensibilité de tous les tests. Pour les IgG, les quatre tests évalués ont montré une sensibilité supérieure à 90%, Abbott (95 %) et Liaison (94 %) présentant une sensibilité significativement plus élevée que Platelia (90 %). De plus, Abbott a montré sa supériorité dans les cas d'infection maternelle du troisième trimestre. Dans le contexte des nouveau-nés de mères infectées par *Toxoplasma gondii* pendant la grossesse, afin d'assurer une prise en charge efficace, Platelia et Abbott ont semblé les plus adaptés pour relayer les tests de référence pour la détection des IgM pour le premier et des IgG pour le second.

Mots-clés : Toxoplasmose congénitale, IgG, IgM, immunodiagnostic, diagnostic postnatal, *Toxoplasma*, nouveau-né

DISCIPLINE administrative : Diplôme d'études spécialisées de Biologie médicale

INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE :

Parasitologie-Mycologie, CHU de Toulouse Purpan
Institut Fédératif de Biologie (IFB)
330 Avenue de Grande Bretagne 31059 Toulouse