

Synthèse intrathécale d'anticorps anti-Toxoplasma gondii au cours de la toxoplasmose cérébrale associée au sida africain.

M. Makuwa (1, 2), H. Loemba (3), Y. Beuzit (3), J. M. Livrozet (4) & L. Belec (5)

(1) Laboratoire de rétrovirologie, Centre international de recherches médicales de Franceville, BP769, Franceville, Gabon ;fax :241 67 72 95 ;E-mail :mmakuwa@cauchy.cirmfrv.fr

(2) Laboratoire national de santé publique, Brazzaville, Congo.

(3) Hôpital central des Forces armées congolaises, Brazzaville, Congo.

(4) Hôpital Edouard Herriot, Lyon, France.

(5) Laboratoire de virologie, hôpital Broussais, Paris, France.

Manuscrit n° 1894. "Parasitologie". Reçu le 7 octobre 1997. Accepté le 29 janvier 1999.

Summary: Intrathecal Synthesis of Antibodies to *Toxoplasma gondii* in Cerebral Toxoplasmosis Associated with African AIDS.

Thirty-four HIV-1-infected in-patients of the Hôpital Central des Forces Armées Congolaises, Brazzaville, Congo, hospitalized for suspected cerebral toxoplasmosis, have been evaluated for integrity of the blood-brain barrier, intrathecal synthesis of total IgG, toxoplasmic serology in blood and cerebrospinal fluid, and for intrathecal synthesis of IgG to *Toxoplasma gondii*. An empiric scale to gauge the possibility of clinical cerebral toxoplasmosis was used to classify the patients (+, ++, +++). Only an intrathecal synthesis of IgG to *Toxoplasma gondii* was found to be associated with suspected cerebral toxoplasmosis: it was found in about 80% of patients, and more frequently in patients with a higher probability of disease. In contrast, alteration of the blood-brain barrier, intrathecal synthesis of total IgG and toxoplasmic serology in blood as well as in cerebrospinal fluid were not associated with suspected cerebral toxoplasmosis. Taken together, these findings confirm that intrathecal synthesis of antitoxoplasmic antibodies of the IgG isotype occurs in cerebral toxoplasmosis. Demonstration of intrathecal synthesis of antitoxoplasmic IgG antibodies could be used to confirm clinical diagnosis of cerebral toxoplasmosis, especially in an African context, where sophisticated laboratory facilities are often lacking.

Résumé :

L'état de la barrière hémato-méningée, la recherche d'une synthèse intrathécale d'IgG totales, la sérologie de la toxoplasmose dans le sang et dans le liquide céphalorachidien et la recherche d'une synthèse intrathécale d'IgG anti-toxoplasmiques ont été évaluées chez 34 malades infectés par le VIH-1, hospitalisés à l'Hôpital central des Forces armées congolaises, Brazzaville, Congo, pour suspicion de toxoplasmose cérébrale. Un score clinique empirique a été utilisé pour quantifier le degré de suspicion de toxoplasmose cérébrale (très forte suspicion, forte suspicion, suspicion faible ou modérée). Une synthèse intrathécale d'anticorps anti-toxoplasmiques de classe IgG avait une forte valeur pour confirmer la suspicion de toxoplasmose cérébrale, puisque près de 8 malades sur 10 avaient une synthèse intrathécale et que la prévalence des malades ayant une synthèse intrathécale d'IgG anti-toxoplasmiques était d'autant plus élevée que le degré de suspicion clinique était fort. Au contraire, l'état de la barrière hémato-méningée, l'existence d'une synthèse intrathécale d'IgG polyclonales, la sérologie de la toxoplasmose dans le sang et dans le liquide céphalorachidien n'étaient pas associés à la suspicion de toxoplasmose cérébrale. Ces résultats confirment que la toxoplasmose cérébrale peut être associée à une synthèse intrathécale d'anticorps spécifiques, dont la recherche pourrait être un marqueur biologique utile permettant d'étayer le diagnostic clinique de toxoplasmose cérébrale chez le sidéen en Afrique.

Key-words: AIDS -

Cerebral toxoplasmosis -
Cerebrospinal fluid - Anti -
body to *Toxoplasma gondii* -
Intrathecal synthesis -
Hospital - Congo -
Central Africa

Mots-clés : Sida -

Toxoplasmose cérébrale -
Liquide céphalorachidien -
Anticorps anti-toxoplasmique -
Synthèse intra-thécale -
Hôpital - Congo -
Afrique centrale

Introduction

Au cours du syndrome d'immunodéficience acquise (sida), l'atteinte du système nerveux central est fréquente; celle-ci regroupe des néoplasies (lymphome cérébral primitif), des infections opportunistes (virales, parasitaires, mycosiques et bactériennes) et l'encéphalopathie due au VIH lui-même. La toxoplasmose cérébrale est une des affections opportunistes

du système nerveux central les plus fréquentes. Son incidence dépend de la prévalence relative de la parasitose dans un biotope particulier. Ainsi, en Europe, elle représente environ 40 % des atteintes du système nerveux central du sida. Elle est moins fréquente en Europe du nord ou aux Etats-Unis. En Afrique subsaharienne, sa prévalence semble élevée, mais moins qu'en Europe (2). Dans une étude postmortem réalisée au Zaïre, une toxoplasmose était observée chez 8 % de 62 malades décédés au stade de sida (2).

Le diagnostic de certitude de la toxoplasmose cérébrale est anatomo-pathologique, ou encore microbiologique, grâce à l'isolement du parasite par culture, ou par la détection de l'ADN parasitaire par technique d'amplification génique. Plus souvent, notamment en cas d'atteinte cérébrale, le diagnostic n'est que présomptif, porté sur des arguments cliniques ou radiologiques, le traitement mis en œuvre ayant véritablement valeur de traitement d'épreuve, qui confirmera ou infirmera au bout de 5 à 10 jours le diagnostic. Une étude prospective a été réalisée pour étudier les critères pour le diagnostic de l'encéphalite toxoplasmique chez les sujets immunodéprimés, dont la sérologie de la toxoplasmose, qui a peu de valeur diagnostique chez ces malades immunodéprimés (8). En Afrique subsaharienne, le diagnostic de certitude de toxoplasmose cérébrale est le plus souvent impossible. L'approche empirique du traitement d'épreuve reste la règle. Pourtant, il pourrait être intéressant en pratique médicale de disposer d'une méthode simple pour étayer le diagnostic.

Sachant qu'au cours de la toxoplasmose cérébrale une production intrathécale d'anticorps anti-*Toxoplasma gondii* a été démontrée (7), le but de la présente étude a été d'évaluer, en contexte africain, l'intérêt diagnostique d'une telle synthèse intrathécale chez des malades sidéens présentant des signes neurologiques centraux. Cette étude a été réalisée au Congo, où la prévalence de l'infection à *Toxoplasma gondii* est élevée, puisqu'elle atteint 60 % de la population des femmes enceintes (5) et 65,3 % des malades congolais infectés par le VIH-1 (6).

Malades et méthodes

Patients

Trente-quatre malades (23 hommes et 11 femmes) infectés par le VIH de type 1, hospitalisés à l'Hôpital central des Forces armées congolaises, ont été inclus. Leur âge moyen était de 39,9 ans (extrêmes : 20 et 56 ans). Tous ces malades présentaient un ou plusieurs troubles neurologiques centraux : déficit moteur de type hémiplégié (n = 5) ; atteinte du système nerveux central accompagnée de fièvre et de céphalées rebelles et intenses (n = 20) ; tableau de méningo-encéphalite (n = 5) ; syndrome extrapyramidal isolé en contexte fébrile (n = 4) ; manifestations neuropsychiatriques associées (n = 9).

Un score clinique, empirique, basé sur l'évolution thérapeutique, a été utilisé pour classer les patients en trois groupes en fonction du degré de suspicion de toxoplasmose cérébrale :

- groupe 1 : très forte suspicion avec réussite complète du traitement présomptif par l'association pyriméthamine-sulfadiazine (+++ ; n=19),
- groupe 2 : forte suspicion avec réussite partielle du traitement présomptif (++ ; n=8),
- groupe 3 : suspicion faible ou modérée sans réussite du traitement présomptif (+ ; n=7).

Méthodes

Du sérum et du liquide céphalorachidien (LCR) ont été prélevés pour chaque malade.

Dosages

Les anticorps anti-*Toxoplasma gondii* d'isotype IgG et IgM ont été détectés dans le sérum et dans le LCR par une trousse commerciale (Toxo-Ha kit, Bio-Mérieux, Marcy-l'Etoile, France). Les protéines totales ont été mesurées dans le sérum par une méthode colorimétrique (Protéines-Kit, Bio-Mérieux) et dans le LCR par la technique au bleu de Coomassie (SDS). L'albumine a été mesurée dans le sérum par une méthode colorimétrique (Albumine-kit, Bio-Mérieux) et dans le LCR par

immunodiffusion radiale (LC-Partigen Albumin, Behring, Marburg, Allemagne). Les IgG totales ont été mesurées par immunodiffusion radiale dans le sérum (IgG Immunokit, Bio-Mérieux) et dans le LCR (LC-Partigen IgG, Behring).

Barrière hémato-encéphalique

L'intégrité de la barrière hémato-encéphalique a été appréciée à l'aide du quotient albumine

$$(Q \text{ Alb}) (1) : Q \text{ Alb} = ([\text{Alb}]_{\text{LCR}} / [\text{Alb}]_{\text{Sérum}}) \times 100 \text{ (normale } < 0,65).$$

Synthèse intrathécale d'IgG totales polyclonales

La synthèse intrathécale des IgG totales [SI (IgG)] a été évaluée par la formule de SCHÜLLER (9) :

$$\text{SI (IgG) (mg/l)} = [\text{IgG}]_{\text{LCR}} (\text{mg/l}) - 30 + ([\text{Alb}]_{\text{LCR}} (\text{mg/l}) - 240) \times ([\text{IgG}]_{\text{Sérum}} (\text{mg/l}) / 60).$$

Synthèse intrathécale d'anticorps anti-*Toxoplasma gondii*

La synthèse intrathécale des anticorps spécifiques anti-*Toxoplasma gondii* dans le LCR a été évaluée à l'aide de la méthode de charge immunitaire (ChI) calculée dans le sérum et le LCR grâce aux formules suivantes :

$$\text{ChI}_{\text{Sérum}} = (\text{IgG anti-} T. \text{ gondii})_{\text{Sérum}} (\text{UI/ml}) / [\text{IgG totales}]_{\text{Sérum}} (\text{mg/ml})$$

$$\text{ChI}_{\text{LCR}} = (\text{IgG anti-} T. \text{ gondii})_{\text{LCR}} (\text{UI/ml}) / [\text{IgG totales}]_{\text{LCR}} (\text{mg/ml})$$

Lorsque la charge immunitaire (UI/mg) est plus de trois fois supérieure dans un compartiment par rapport à l'autre, il est admis qu'une synthèse d'anticorps a lieu dans le compartiment de plus forte charge immunitaire (3).

Analyse statistique

Les comparaisons de prévalences entre les groupes ont été évaluées par le test χ^2 à 2 ddl avec le logiciel InStat 1.12 (GraphPad Software, 1992).

Résultats

Barrière hémato-encéphalique

La barrière hémato-encéphalique était lésée chez une majorité de malades ayant une suspicion clinique de toxoplasmose cérébrale (18/34 = 53%) (tableau I). Il n'existait cependant pas de relation statistiquement significative entre le degré de suspicion clinique et la prévalence de malades ayant une barrière hémato-encéphalique lésée (P=0,16).

Tableau I.

Etat de la barrière hémato-encéphalique selon le degré de suspicion clinique de toxoplasmose cérébrale. State of the blood-brain barrier according to degree of clinical suspicion of cerebral toxoplasmosis.				
état de la barrière	degré de suspicion clinique			total (n=34)
	+	++	+++	
	(n=7)	(n=8)	(n=19)	
intacte (Q Alb<0,65)	2	6	8	16
lésée (Q Alb>0,65)	5	2	11	18

Synthèse intrathécale d'IgG

Il existait une synthèse intrathécale d'IgG polyclonales chez une majorité de malades ayant une suspicion clinique de toxoplasmose cérébrale (18/34=53%) (tableau II).

Tableau II.

Synthèse intrathécale d'IgG totales polyclonales selon le degré de suspicion clinique de toxoplasmose cérébrale. Intrathecal synthesis of total polyclonal IgG according to degree of clinical suspicion of cerebral toxoplasmosis.				
synthèse intrathécale	degré de suspicion clinique			total (n=34)
	+	++	+++	
	(n=7)	(n=8)	(n=19)	
présente	4	5	9	18
absente	3	3	10	16

* Selon la formule de SCHÜLLER (9).

Ainsi, 47 % (9/19) des malades ayant une suspicion très forte, 62 % (5/8) de ceux ayant une suspicion forte et enfin 57 % (4/7) de ceux ayant une simple présomption de toxoplasmose cérébrale avaient une synthèse intrathécale d'IgG. Il n'existait pas d'association significative entre le degré de suspicion de toxoplasmose cérébrale et la proportion de malades ayant une synthèse intrathécale d'IgG ($P=0,74$).

Tableau III.

Titres des anticorps anti-toxoplasmiques de classe IgG et prévalences des anticorps de classe IgM, dans le sérum et le liquide céphalorachidien de 34 patients en fonction du degré de suspicion clinique de toxoplasmose cérébrale.

Titres of antitoxoplasmosis antibodies of IgG class and prevalence of antibodies of IgM class in the serum and cerebrospinal fluid of 34 patients according to degree of clinical suspicion of cerebral toxoplasmosis.

	titre des IgG anti-T. gondii			présence d'IgM anti-T. gondii	total
	<25 UI/ml (négatif)	25-200 UI/ml	>200 UI/ml		
sérum	1	4	29	oui	34
degré de suspicion					
+	0	2	5	non	7
++	0	0	8	oui	8
+++	1*	2	16	non	19
LCR	8	22	4	non	34
degré de suspicion					
+	6	0	1	non	7
++	2	6	0	non	8
+++	0	16	3	non	19

* Le patient ayant le titre d'anticorps anti-toxoplasmiques très faible dans le LCR

Titrage des anticorps anti-Toxoplasma dans le sérum et dans le LCR

Les titrages des anticorps anti-toxoplasmiques dans le sérum et dans le LCR sont montrés dans le tableau III.

Dans le sérum, un seul malade était séronégatif pour *Toxoplasma gondii*, alors que tous les malades avaient des anticorps anti-toxoplasmiques d'isotype IgG. Un seul malade avait des anticorps anti-toxoplasmiques d'isotype IgM. Quarante pour cent (16/19) des malades ayant une suspicion très forte, 100 % (8/8) de ceux ayant une suspicion forte, et enfin 71 % (5/7) de ceux ayant une simple présomption de toxoplasmose cérébrale avaient des titres très élevés d'IgG anti-toxoplasmiques circulants (>200 UI/ml); la prévalence de détection ne différait cependant pas significativement selon les groupes ($P = 0,29$).

Dans le LCR, 23 % (8/34) des malades n'avaient pas d'anticorps anti-toxoplasmiques d'isotype IgG détectables et un malade présentait un taux très faible (+/- 25 UI/ml). Aucun malade n'avait d'anticorps anti-toxoplasmiques d'isotype IgM. Les titres des anticorps anti-toxoplasmiques d'isotype IgG du LCR n'étaient pas associés au degré de suspicion de toxoplasmose cérébrale ($P = 0,60$).

Synthèse locale des anticorps anti-toxoplasmiques de classe IgG

Parmi les 34 cas de suspicion de toxoplasmose cérébrale, 25 (73 %) avaient une synthèse intrathécale d'IgG anti-toxoplasmiques (tableau IV). Ainsi, 95 % (18/19) des malades ayant une suspicion très forte, 75 % (6/8) de ceux ayant une suspicion forte et enfin 14 % (1/7) de ceux ayant une simple présomption de toxoplasmose cérébrale avaient une synthèse intrathécale d'IgG anti-toxoplasmique ($P = 0,0002$).

Tableau IV.

Synthèse intrathécale d'IgG anti-toxoplasmiques selon le degré de suspicion clinique de toxoplasmose cérébrale.

Intrathecal synthesis of anti-toxoplasmic IgG according to degree of clinical suspicion of cerebral toxoplasmosis.

synthèse intrathécale*	degré de suspicion clinique			total
	+	++	+++	
	(n=7)	(n=8)	(n=9)	(n=34)
présente	1	6	18	25
absente	6	2	1	9

* définie par une charge immunitaire en IgG anti-T. gondii du LCR 3 fois la charge immunitaire en IgG anti-T. gondii du sérum.

Discussion

Dans cette série de 34 malades africains infectés par le VIH, hospitalisés pour toxoplasmose cérébrale sur des critères cliniques et de traitement d'épreuve, seule l'existence d'une synthèse intrathécale des anticorps anti-toxoplasmiques de classe IgG était fortement associée à la suspicion de toxoplasmose cérébrale. Au contraire, l'état de la barrière hémato-méningée, l'existence d'une synthèse intrathécale d'IgG polyclonales, des titres élevés (>200 UI/ml) d'anticorps anti-toxoplasmiques circulants, ou encore la sérologie de la toxoplasmose dans le LCR n'étaient pas associés à la suspicion clinique de toxoplasmose du système nerveux central.

La synthèse intrathécale d'IgG polyclonales est fréquente à tous les stades de l'infection par le VIH. Elle possède de plus une certaine valeur prédictive d'atteinte du système nerveux central due à l'infection par le VIH elle-même (10). Chez nos malades, la synthèse intrathécale d'IgG polyclonales n'est probablement pas spécifique de la toxoplasmose cérébrale, mais elle confirme la suspicion clinique d'un processus lésionnel touchant le système nerveux central.

L'apport de la sérologie dans le diagnostic de toxoplasmose cérébrale chez les sujets immunodéprimés est classiquement décevant. WONG *et al.* (11) rapportent que la recherche des anticorps de classe IgE chez les patients avec une réactivation de l'infection chronique (choriorétinite et encéphalite toxoplasmiques) peut être utile pour le diagnostic d'une infection toxoplasmique. Chez nos malades ayant une suspicion de toxoplasmose cérébrale, un titre élevé d'anticorps anti-toxoplasmiques était le plus souvent trouvé. Cette constatation indique que l'immunité humorale systémique dirigée contre *Toxoplasma gondii* chez ces malades congolais infectés par le VIH est, au moins en partie, conservée. Bien que nous ne disposions pas du taux de lymphocytes T CD4 circulants, il est possible que la réactivation des kystes toxoplasmiques ait été associée, chez ces patients, à une immunosuppression encore relativement peu avancée, mais inférieure à 200 CD4 par mm³, ou encore à une charge parasitaire systémique particulièrement importante. Les titres absolus des anticorps anti-toxoplasmiques du sérum, comme du LCR, ne permettaient pas de confirmer ou d'infirmer la suspicion clinique de toxoplasmose cérébrale. Nous avons montré que la présence simultanée d'anticorps IgG anti-toxoplasmiques dans le sang et dans le LCR peut avoir une certaine valeur diagnostique (6). Dans notre étude, seule la comparaison des activités spécifiques des anticorps anti-toxoplasmiques dans le sang et dans le LCR, à la recherche d'une synthèse intrathécale des anticorps anti-toxoplasmiques de classe IgG, avait une forte valeur pour confirmer la suspicion de toxoplasmose cérébrale, puisque près de 8 malades sur 10 avaient une synthèse intrathécale, et que la prévalence des malades ayant une synthèse intrathécale d'IgG anti-toxoplasmiques était d'autant plus élevée que le degré de suspicion clinique était fort. Ces résultats confirment, chez des malades africains, que la toxoplasmose cérébrale peut être associée à une synthèse intrathécale d'anticorps spécifiques (7), même à un stade de sida avéré. Ils montrent la valeur prédictive de ce marqueur biologique pour étayer le diagnostic clinique de toxoplasmose cérébrale chez le sidéen.

Le quotient albumine est un indicateur de l'état de la barrière hémato-encéphalique. Chez nos patients, le quotient albumine était augmenté dans près de 50 % des cas; ce marqueur n'était cependant pas associé au degré de suspicion clinique de toxoplasmose cérébrale. Au stade de sida, les malades ayant des complications neurologiques centrales ont généralement un quotient albumine plus élevé que celui des malades sans complication neurologique (4,1). Cependant, l'altération de la bar-

rière hémato-encéphalique ne paraît pas être suffisamment significative dans de nombreux cas de toxoplasmose cérébrale. En conclusion, nos observations indiquent que la suspicion de toxoplasmose cérébrale chez des malades africains peut être associée à une synthèse intrathécale d'anticorps anti-toxoplasmiques. La recherche d'une synthèse intrathécale d'anticorps anti-toxoplasmiques de classe IgG est facilement accessible; elle pourrait être utile pour confirmer les cas de toxoplasmose cérébrale de diagnostic difficile au cours du sida africain.

Remerciements

Nous tenons à remercier les Laboratoires Bio-Mérieux, France, et la Fondation-Afrique-Lyon-sida, pour leur fourniture de réactifs, ainsi que Mme Jacqueline BAKOUELETA et M. David MAHOONO pour leur excellente aide technique.

Références bibliographiques

1. CAUDIE C, VERGNE A, SAINT-MARC T, TOURAINE F, LIVROZET JM *et al.* - Profil biologique du LCR chez 48 patients infectés par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH-1 et VIH-2). *Retrovirus*, 1990, **3**, 34-42.
2. COLEBUNDERS RL & LATIF AS - Natural history and clinical presentation of HIV-1 infection in adults. *AIDS*, 1991, **5** (suppl. 1), S103-S112.
3. DEROUIN F & THULLIER P - Diagnostic biologique de la toxoplasmose. *Laborama*, 1993, **33** (suppl.), 3-27.
4. GALLO R, DE ROSSI A, AMADORI A, TAVOLATO B & CHIECO-BIANCHI L - Central nervous system involvement in HIV infection. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 1988, **4**, 211-220.
5. MAKUWA M, LECKO M, NSIMBA B, BAKOUELETA J & LOUANANA-KOUTA J - Toxoplasmose et la femme enceinte au Congo. Bilan de 5 ans de dépistage (1986-1990). *Méd Afr Noire*, 1992, **39**, 493-495.
6. MAKUWA M, LOEMBA H, NGOUONIMBA J, BEUZIT Y, LOUIS JP & LIVROZET JM - Sérologie de la toxoplasmose et du cytomégalo virus des malades infectés par le VIH au Congo. *Cahiers Santé*, 1994, **4**, 15-19.
7. POTASSMAN MH, ROQUES C & SEGUELA, JP - Intrathecal production of antibodies against *Toxoplasma gondii* in patients with toxoplasmic encephalitis and the acquired immune deficiency syndrome. *Ann Intern Med*, 1988, **108**, 49-51.
8. RAFFI F, ABOULKER JP, MICHELET CH, RELIQUET V, PELLOUX H *et al.* - A prospective study of criteria for the diagnosis of toxoplasmic encephalitis in 186 AIDS Patients. *AIDS*, 1997, **11**, 177-184.
9. SCHULLER EAC, BENABDALLAH S, SAGAR HJ, REBOUL JAM & TEMPE LC - IgG synthesis within the central nervous system. Comparison of three formulas. *Arch Neurol*, 1987, **44**, 600-604.
10. SINGER EJ, SYNDULKO K, FAHY-CHANDON B, SCHMID P, CONRAD A & TOURTELLOTTE WW - Intrathecal IgG synthesis and albumin leakage are increased in subjects with HIV-1 neurologic disease. *J Acquir Immun Defic Syndr*, 1994, **7**, 265-271.
11. WONG SY, HAJDU MP, RAMIREZ R, THULLIEZ P, McLEOD R & REMINGTON JS - Rôle of specific immunoglobulin E in diagnosis of acute toxoplasma infection and toxoplasmosis. *J Clin Microbiology*, 1993, **31**, 2952-2959.