

Mise en place ou changement d'une méthode de PCR *Toxoplasma gondii*¹

Denis Filisetti, Yvon Sterkers validé par le groupe de travail du Pôle Biologie Moléculaire CNR Toxoplasme

Ces recommandations sont formulées sur la base de l'analyse des questionnaires annuels concernant les pratiques associés au contrôle qualité national (EEQ) en PCR *Toxoplasma gondii*, dont des synthèses sont régulièrement publiées ([Bastien et al. Clin Microbiol Infect 2007](#), [Sterkers et al. Clin Microbiol Infect 2010](#) et [Roux et al. Int J Parasitol. 2018](#)) et des données de la littérature. Elles s'inscrivent dans le cadre de la mission d'amélioration des pratiques et d'harmonisation des performances du Pôle Biologie moléculaire.

1. Choix de la cible PCR : rep 529 ([Homan et al. Int J Parasitol 2000](#), [Reischl et al. BMC Infect Dis 2003](#)).
2. Nombre de PCR à réaliser par échantillon : ≥ 2 .
3. Méthodes^a :

| Non commercialisées ^{ab} | Commercialisées ^c |
|---|--|
| Reischl U., et al. (BMC Infect Dis., 2003) révélée en FRET N = 7 Fekkar A., et al. (J Clin Microbiol., 2008) révélée en TaqMan N = 3 | BioEvolution N = 11 Elitech N = 2 Tib Mol Biol N = 1 Progenie Molecular N = 1 Sacace N = 1 |

N = nombre de laboratoires utilisateurs en 2024.

^a Le Pôle Biologie Moléculaire n'émet pas de recommandation concernant le choix entre méthode commerciale ou maison.

^b Le Pôle Biologie Moléculaire n'émet pas de recommandation concernant le choix entre les deux méthodes.

^c Les méthodes listées sont évaluées favorablement par le Pôle Biologie Moléculaire et peuvent donc être utilisées sous réserve de l'applicabilité de la réglementation CE-IVDR.

4. Extraction de l'ADN de *Toxoplasma gondii*

Principales méthodes utilisées par les participants à l'EEQ national (données enquête 2024) :

| Méthodes automatisées ^{ab} | Méthodes manuelles |
|---|--|
| eMAG (bioMérieux) (N=12) easyMAG (bioMérieux) (N=6) QIASymphony DNA Midi kit (Qiagen) (N=4) BioRobot EZ1 (Qiagen), (N=4) Magnapure 96 ou MP24 (Roche) (N=4) Qiacube, QiaAmp DNA minikit (Qiagen) (N=3) InGenius ou Bigenius (ELITech) (N=2) | Qiagen mini kit (N=9) Thermolyse alcaline, Hohlfeld et al. N Engl J Med 1994 (N=1) Promega Protein Precipitation Solution A7951, Brenier-Pinchart et al. J Mol Diagn. 2022 (N=1) |

^a En 2024, 18 méthodes d'extraction différentes, 69 % (22/32) des laboratoires utilisent des méthodes différentes selon la matrice extraite
^b Pour les méthodes de PCR commercialisées, la notice indique les méthodes d'extraction validées par le fabricant. Toute autre méthode d'extraction doit faire l'objet d'un dossier de validation de méthode (portée B) ou s'appuyer sur une référence bibliographique.

Références bibliographiques:

- [Three years of multi-laboratory external quality control for the molecular detection of *Toxoplasma gondii* in amniotic fluid in France.](#) Bastien P, Jumas-Bilak E, Varlet-Marie E, Marty P; ANOFEL Toxoplasma-PCR Quality Control Group. *Clin Microbiol Infect.* 2007 Apr;13(4):430-3.
- [Diversity and evolution of methods and practices for the molecular diagnosis of congenital toxoplasmosis in France: a 4-year survey.](#) Sterkers Y, Varlet-Marie E, Marty P, Bastien P; ANOFEL Toxoplasma-PCR Quality Control Group. *Clin Microbiol Infect.* 2010 Oct;16(10):1594-602.
- [Evolution of Toxoplasma-PCR methods and practices: a French national survey and proposal for technical guidelines.](#) Roux G, Varlet-Marie E, Bastien P, Sterkers Y; French National Reference Center for Toxoplasmosis Network. *Int J Parasitol.* 2018 Aug;48(9-10):701-707.
- [Identification of a 200- to 300-fold repetitive 529 bp DNA fragment in *Toxoplasma gondii*, and its use for diagnostic and quantitative PCR.](#) Homan WL, Vercammen M, De Braekeleer J, Verschueren H. *Int J Parasitol.* 2000 Jan;30(1):69-75.
- [Comparison of two DNA targets for the diagnosis of Toxoplasmosis by real-time PCR using fluorescence resonance energy transfer hybridization probes.](#) Reischl U, Bretagne S, Krüger D, Ernault P, Costa JM. *BMC Infect Dis.* 2003 May 2:3:7.
- [Comparison of immunoblotting, calculation of the Goldmann-Witmer coefficient, and real-time PCR using aqueous humor samples for diagnosis of ocular toxoplasmosis.](#) Fekkar A, Bodaghi B, Touafek F, Le Hoang P, Mazier D, Paris. *J Clin Microbiol.* 2008 Jun;46(6):1965-7.
- [Multicentric comparative assessment of the bio-evolution *Toxoplasma gondii* detection kit with eight laboratory-developed PCR assays for molecular diagnosis of congenital toxoplasmosis.](#) Filisetti D, Sterkers Y, Brenier-Pinchart MP, Cassaing S, Dalle F, Delhaes L, Pelloux H, Touafek F, Varlet-Marie E, Yera H, Candolfi E, Bastien P. *J Clin Microbiol.* 2015 Jan;53(1):29-34.
- [Evaluation of Toxoplasma ELITE MGB Real-Time PCR Assay for Diagnosis of Toxoplasmosis.](#) Robert-Gangneux F, Brenier-Pinchart MP, Yera H, Belaz S, Varlet-Marie E, Bastien P; Molecular Biology Study Group of the French National Reference Center for Toxoplasmosis. *J Clin Microbiol.* 2017 May;55(5):1369-1376.
- [Evaluation of Two Commercial Kits on the Automated ELITE InGenius PCR Platform for Molecular Diagnosis of Toxoplasmosis.](#) Nourrisson C, Moniot M, Poirier P, Sterkers Y. *J Mol Diagn.* 2021 Jul;23(7):865-871.
- [Multicenter Comparative Assessment of the TIB MolBiol Toxoplasma gondii Detection Kit and Four Laboratory-Developed PCR Assays for Molecular Diagnosis of Toxoplasmosis.](#) Brenier-Pinchart MP, Robert-Gangneux F, Accoeberry I, Pichard S, Garnaud C, Fricker-Hidalgo H, Lévéque MF, Hoarau G, Pelloux H, Bastien P, Sterkers Y, Varlet-Marie E. *J Mol Diagn.* 2021 Aug;23(8):1000-1006.
- [Molecular Diagnosis of Toxoplasmosis: Multicenter Evaluation of the Toxoplasma RealCycler Universal PCR Assay on 168 Characterized Human Samples.](#) Brenier-Pinchart MP, Filisetti D, Cassaing S, Varlet-Marie E, Robert-Gangneux F, Delhaes L, Guitard J, Yéra H, Bastien P, Pelloux H, Sterkers Y. *J Mol Diagn.* 2022 Jun;24(6):687-696.
- [Multicenter evaluation of the Toxoplasma gondii Real-TM \(Sacace\) kit performance for the molecular diagnosis of toxoplasmosis.](#) Guitard J, Brenier-Pinchart M-P, Varlet-Marie E, Dalle F, Rouges C, Argy N, Bonhomme J, Capitaine A, Guégan H, Lavergne R-A, Dardé M-L, Pelloux H, Robert-Gangneux F, Yera H, Sterkers Y. *J Clin Microbiol.* 2024 Apr 10;62(4):e0142823.

¹ Dans le cadre de l'accréditation des laboratoires de biologie médicale, la mise en place d'une méthode de PCR *Toxoplasma gondii* peut relever d'une demande d'extension pour l'ouverture de la ligne de portée PM04. Le changement d'une méthode accréditée de PCR nécessite une gestion de la portée flexible. Les publications scientifiques du Pôle Biologie Moléculaire ont permis de montrer que les performances des méthodes non commercialisées sont équivalentes ou supérieures aux méthodes commercialisées marquées CE-IVDR.