



Protocole pour la détection du virus MONKEYPOX par PCR en temps réel

1 Extraction

Lyse externe (LSB3) : 200µl d'échantillon + 200µl de tampon de lyse (Kit Qiagen QIAamp DNA mini kit)

Contrôle interne : 10µl de SPCY 1/100.

Extraction manuelle avec un volume d'élution de 200µl.

Kit QIAamp DNA mini kit : Ref :51304

Lot : 172023567

2 Kit PCR

Nom : *Detection Kit for Monkeypoxvirus (MPV) DNA (Lyophilised)*

Fabricant : *Guandong Huayin Medicine Science Co Ltd*

Fournisseur : Primadiag

Marquage : IVD

Ref : HY06162

Manuel : ?

Température de conservation /30°C.

LOT: 20220601 / 20240605

Matrices : serum/plasma, écouvillon gorge, salive, autre lésions.

Cibles	Fluorophore	Excitation	Emission
Monkeypox	FAM	495 nm	515 nm
Contrôle interne	VIC	538 nm	554 nm

3 Conditions

Thermocycler : BioRad OPUS96 ref : 795BR03596

Volume de mixe PCR : 20µl

Volume ADN : 5µl

Cycle :

Etape	Température	Temps	cycle
1	95°C	2 min	1 cycle
2	95°C	5 sec	
	60°C	35 sec *	45 cycles



Résultat :

N° de Test : Primadiag_2022-07-08 09-54-13_795BR03596 ; Primadiag_2022-07-11 08-43-37_795BR03596

Validation du Run

Contrôle positif		
FAM (MPV)	Ct<30	Threshold : 6001.53
VIC (IC)	Ct<30	Threshold : 3855.19
Contrôle négatif		
FAM	ND	
VIC	ND	
Echantillon		
MPXV	Ct <38 = POSITIF	Ct>38 = NEGATIF
CI	Ct <40 = POSITIF	Ct>40 = invalide

Matrice :

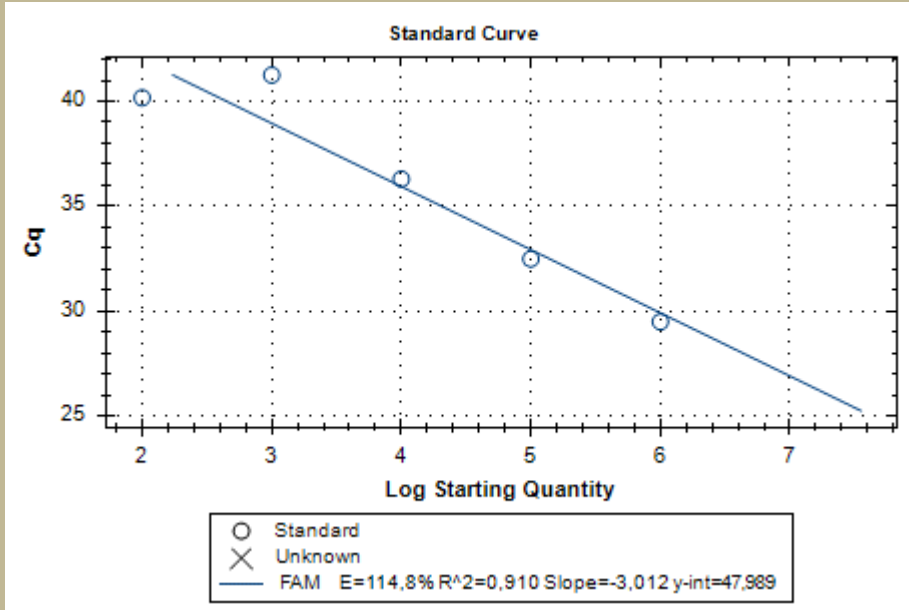
OPUS96	MPXV High	MPXV Low	CPXV	NRT	Positive Control du Kit	Negative control du Kit
MPXV (FAM)	21.65	37.34	ND	ND	25.25	ND
CI (VIC)	27.84	30.03	ND	ND	25.64	ND
in house PCR	19.6	36.5	ND	ND	NA	NA

Gamme :

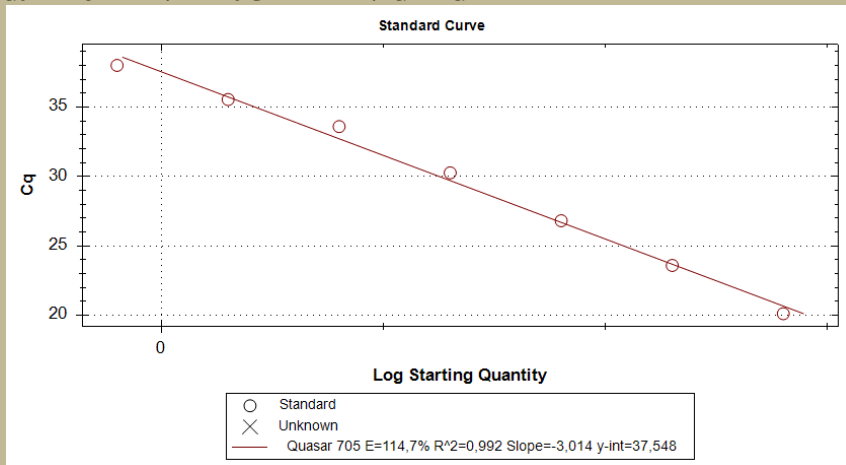
MPXV CNR2211C P2 Vero du 07/06/2022 Titre 4E6 PFU/ml

	10-3	10-4	10-5	10-6	10-7	10-8	10-9	10-10
PFU/ml	4000	400	40	4	0.4	0.04	0.004	0.0004
MPXV (FAM)	29.50	32.49	36.30	41.25	40.17	ND	ND	ND
CI (VIC)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
in house PCR	26.81	30.26	33.60	35.55	38.01	NA	NA	NA

Gamme MPXV : Kit **HY06162**



Gamme MPXV : Kit **CNR MPXV G2R G**



CONCLUSION

Le témoin positif et le témoin négatif ont été validé, permettant l'interprétation des résultats.

Le kit détecte les échantillons primaires MPXV avec faible (Ct élevé) et fort (Ct faible).

Le kit ne détecte pas l'ADN du virus CPXV.

Le Kit permet une détection jusqu'à une équivalence de 4 PFU/ml d'ADN issu d'un surnageant de culture de MPXV.

Le kit permet une détection de l'ADN du virus MPXV, mais la limite de détection du kit est inférieure de 2 log à la référence.