



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

Kit QIAamp DNA mini kit : Ref :51304

Lot : 172023567

2 Kit PCR

Nom : *Bosphore Monkeypoxvirus Detection Kit V1*

Fabricant : Anatoliagenetworks

Mandataire :

Fournisseur : LAUNCH Diagnostics

Marquage : IVD

Ref : ABMPX2

Manuel : MB486V2f June 2022

Température de conservation -22°C /-15°C.

LOT: BCN001B

Matrices : écouvillons cutanéomuqueux, crôutes, sang, sérum...

Cibles	Fluorophore	Excitation	Emission
Cible 1 MPXV	FAM	495 nm	515 nm
Cible 2 CI	HEX	535 nm	555 nm

3 Conditions

Thermocycler : BioRad OPUS96 ref : 795BR03596

Volume de mixe PCR : 15µl

Volume ADN : 5µl

Cycle :

Etape	Température	Temps	cycle
1	95°C	10 min	1 cycle
2	97°C	20 sec	
	60°C	30 sec *	40 cycles
3	32°C	1min	



Résultat :

N° de test : admin_2022-08-11 11-36-27_795BR03596_Kit Bosphore_GFV_20220811

Validation du Run

Contrôle positif		
Cible 1 (FAM) MPXV	Ct<28	
Cible 2 (HEX) CI	Ct<30	
Contrôle négatif		
Cible 1 (FAM)	Ct non déterminé	
Cible 2 (HEX)	Ct non déterminé	
Echantillon		
Positif		
Négatif		

Matrice :

Sondes	MPXV High	MPXV Low	CPXV	NRT	Positive Control du Kit	Negative control du Kit
Cible 1 (FAM) MPXV	19.74	34.72	ND	ND	22.73	ND
Cible 2 (HEX) CI	24.47	24.83	24.94	24.91	24.74	25
PCR-CNR-LE OPV	19.6	36.5	ND	ND	NA	NA

ND : Non détecté

Gamme :

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

	10-3	10-4	10-5	10-6
PFU/ml	4000	400	40	4
MPXV (FAM)	30.01	32.37	36.90	37.25
PCR-CNR-LE OPV	28.53	31.84	35.25	36.50

CONCLUSION

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

Le kit détecte les échantillons primaires MPXV, Ct précoce et tardif.

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.

KIT validé pour la détection d'espèce Monkeypoxvirus.