



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 : *Monkeypox Virus Real Time PCR Kit*

Fabricant : Vitro Master DiagnosticaS.A.

Calle Luis Fuentes Bejarano n° 60. Ed. Nudo Norte Local 3. 41020 Seville (Espagne).

Mandataire :- APPOLON Biotech

Fournisseur : Vitro Master DiagnosticaS.A.

Marquage : CE

Ref : MAD-003969M

Manuel : Rev 2022/06/28

Température de conservation -30°C /-10°C.

LOT: MPXP002W

Matrices : Prélèvements oropharyngés ou cutanéomuqueux

Cibles	Fluorophore	Excitation	Emission
Cible 1- MPXV	FAM	495 nm	515 nm
Cible 2 Beta Globuline	HEX	535 nm	555 nm

3 Conditions

Thermocycler : BioRad OPUS96 ref : 795BR03596

Volume de mixe PCR : 12µl

Volume ADN : 8µl

Cycle :

Etape	Température	Temps	cycle
RT	25°C	5min	1 cycle
1	95°C	5min	1 cycle
2	95°C	15 sec	
	63°C	30 sec *	45 cycles



Résultat :

N° de test : Vitro_apolon_2_2022-09-07 10-19-13_795BR03596

Validation du Run

Cibles	Fluorophore	THRESHOLD
Cible 1- MPXV	FAM	424.56
Cible 2 Beta Globuline	HEX	203.42

Matrice :

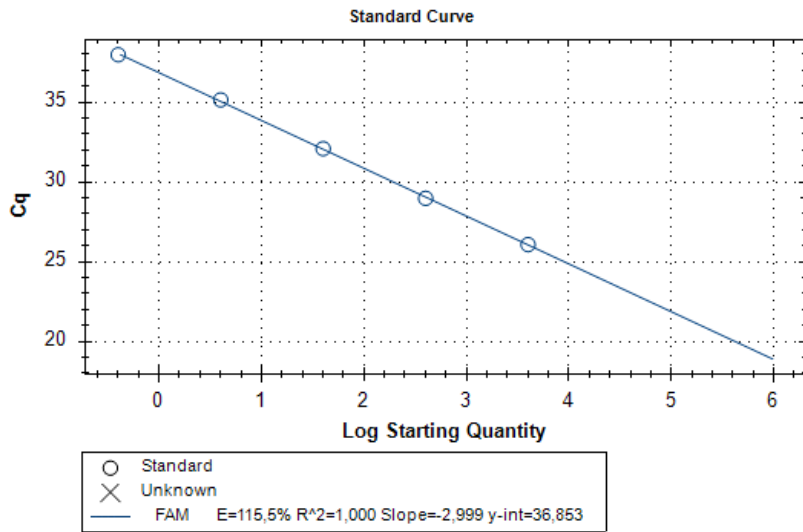
Sondes	MPXV High	MPXV Low	CPXV	NRT	Positive Control du Kit	Negative control du Kit
Cible 1 (FAM)	18.89	20.17	ND	ND	21.13	ND
Cible 2 (HEX)	24.87	26.57	32.68	ND	23.25	ND
	VALIDE	VALIDE	VALIDE	VALIDE	VALIDE	VALIDE
PCR-CNR-LE OPV	19.6	36.5	ND	ND	NA	NA

ND : Non détecté

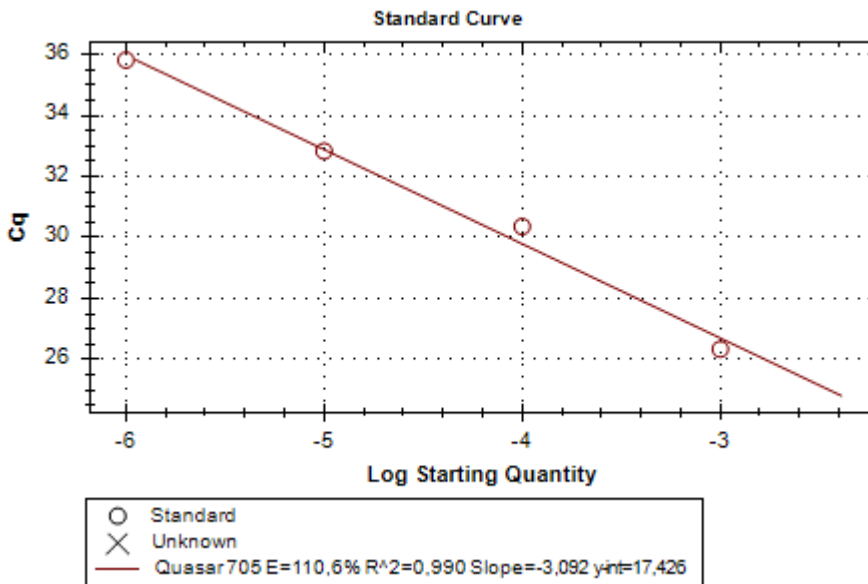
Gamme 06092022:

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

	10-3	10-4	10-5	10-6	10-7
PFU/ml	4000	400	40	4	0.4
MPXV (FAM)	26.07	28.97	32.08	35.15	37.97
	VALIDE	VALIDE	VALIDE	VALIDE	VALIDE
PCR-CNR-LE OPV	28.09	30.11	34.36	36.60	ND



Gamme 06092022 MPXV : Kit CNR MPXV G2R G



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 0.4 PFU/ml d'ADN issu d'un surnageant de culture de MPXV.

KIT validé pour la détection d'espèce Monkeypoxvirus.