



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 qPCR Kit

Fabricant : BioeXsen GmbH

Mandataire :- N/A (Fabricant allemand)

Fournisseur : Takara Bio Europe - 34 Rue de la Croix de Fer, 78100 Saint-Germain-en-Laye

Marquage : CE

Ref : BX-MPV-25

Manuel : version 202206090852MK / Date de publication initiale : 2022-05-27 / Date de révision : 2022-06-09/Rev.01

Température de conservation -22 à -18 °C.

LOT: BX220628MPV

Matrices : Prélèvements oropharyngés ou cutanéomuqueux

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

3 Conditions

Thermocycler : BioRad OPUS96 ref : 795BR03596

Volume de mixe PCR : 7.5µl

Volume ADN : 2.5µl

Cycle :

Etape	Température	Temps	cycle
RT	52°C	3min	1 cycle
1	95°C	3min	1 cycle
2	95°C	1 sec	
	67°C	20 sec *	12 cycles / -1°C
3	95°C	1 sec	
	55°C	20 sec	35

**Résultat :**

N° de test : kit-takara_2022-10-11 11-16-39_795BR03596

Validation du Run

Cibles	Fluorophore	THRESHOLD
Cible 1 MPXV	FAM	309.63
Cible 2	HEX	674.68

Matrice :

Sondes	MPXV High	MPXV Low	CPXV	VACV	VACV	NRT	Positive Control du Kit	Negative control du Kit
Cible 1 (FAM)	10.97	12.13	ND	ND	ND	ND	18.16	ND
Cible 2 (HEX)	16.61	19.58	33.19	29.20	29.94	ND	18.69	ND
	VALIDE	VALIDE	VALIDE	VALIDE	VALIDE	VALIDE	VALIDE	VALIDE
PCR-CNR-LE OPV	19.6	36.5	ND	ND	ND	ND	NA	NA

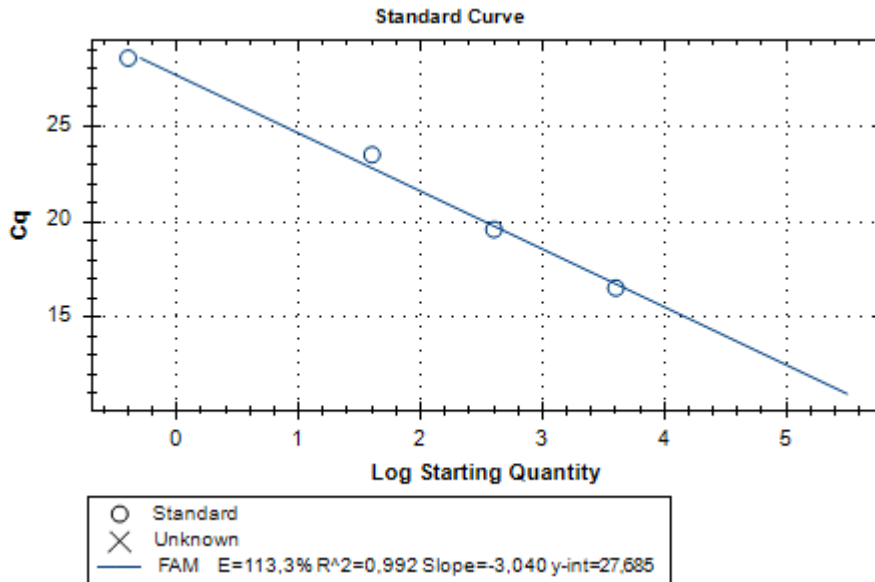
ND : Non détecté

Gamme 06092022:

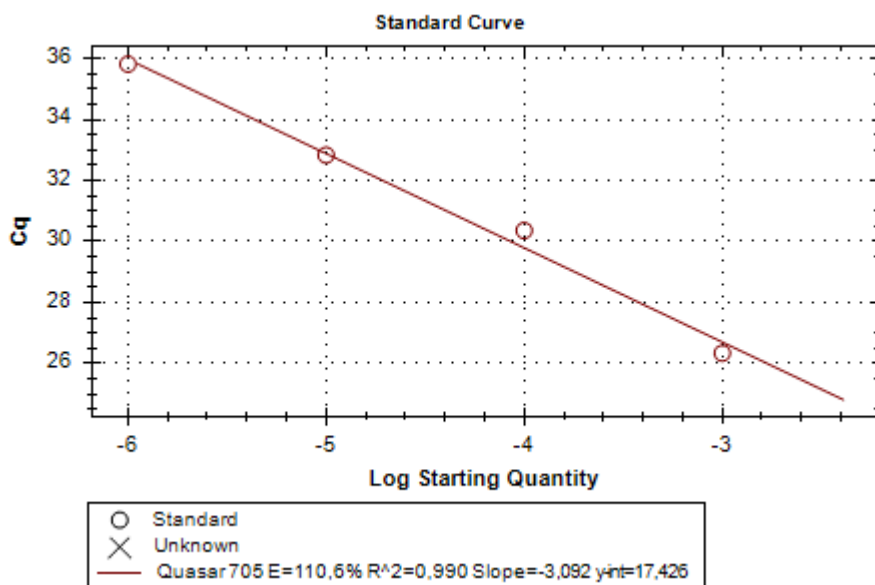
MPXV CNR2211C P2 Vero du 07/06/2022 Titre 4E6 PFU/ml

	10-3	10-4	10-5	10-6	10-7
PFU/ml	4000	400	40	4	0.4
Cible 1 (FAM)	16.52	19.59	23.52		28.59
	VALIDE	VALIDE	VALIDE		VALIDE
PCR-CNR-LE OPV	28.09	30.11	34.36	36.60	ND

Gamme : MPXV : Kit *Monkeypox Virus qPCR Kit*



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 ne détecte pas l'ADN du virus VACV

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.