



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 Nucleic Acid Detection Kit (Fluorescent PCR)*

Fabricant : *BGI HEALTH (HK) COMPANY LIMITED Manufacturer Address: 3/F, 16 Dai Fu Street, Tai Po Industrial Estate, Tai Po, New Territories, Hong Kong, 000000, China*

Mandataire : *BGI Europe A/S*

Fournisseur : *BGI Europe A/S*

Marquage : CE

Ref : HW5325

Manuel : 2022-05-23 Version 1.0

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

LOT: 300724 20221214

Matrices : Ecouvillon naso-oro-pharyngé/sérum/exsudat de lésion/croûte

Cibles	Fluorophore	Excitation	Emission
Cible 1(MPXV)	FAM	495 nm	515 nm
Cible 2(MPXV)	VIC	538 nm	554 nm
Cible 3(CI)	Cy5	650 nm	670 nm

3 Conditions

Thermocycler : BioRad OPUS96 ref : 795BR03596

Volume de mixe PCR : 25µl

Volume ADN : 5µl

Cycle :

Etape	Température	Temps	cycle
1	50°C	2min	1 cycle
2	95°C	1min	1 cycle
3	95°C	5sec	
	55°C	15 sec *	40 cycles



Résultat :

N° de test : Kit_BGI_2022-09-07 14-39-47_795BR03596

Validation du Run

Contrôle positif		
Cible 1 (FAM)	Ct<38	Threshold : 1841.40
Cible 2 (VIC)	Ct<38	Threshold : 1719.70
Cible 3 (Cy5)	+	Threshold : 932.49
Contrôle négatif		
Cible 1 (FAM)	-	
Cible 2 (VIC)	-	
Cible 3 (Cy5)	<35	

Matrice :

Sondes	MPXV High	MPXV Low	CPXV	NRT	Positive Control du Kit	Negative control du Kit
Cible 1 (FAM)	20.51	21.60	ND	ND	27.01	ND
Cible 2 (VIC)	21.05	22.11	ND	ND	28.03	ND
Cible 3 (Cy5)	29.47	33.11	37.45	ND	26.84	ND
PCR-CNR-LE OPV	19.6	36.5	ND	ND	NA	NA

ND : Non détecté

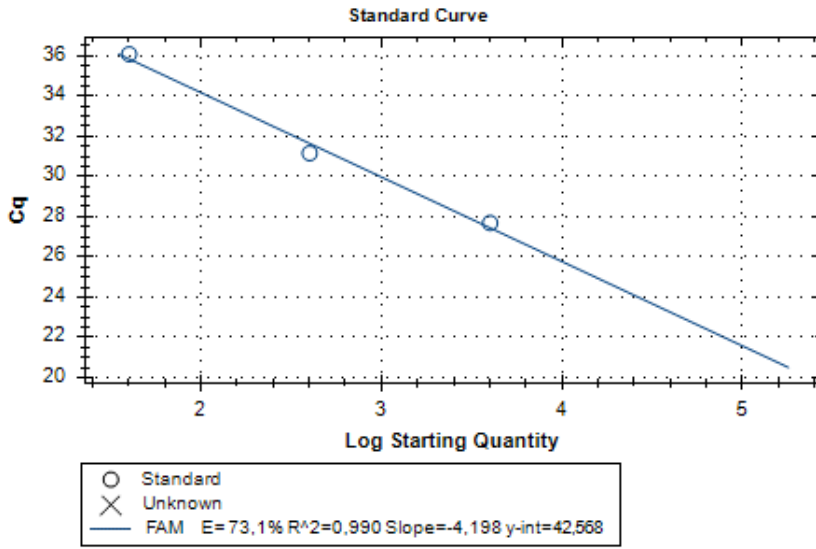
Gamme 06092022 :

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

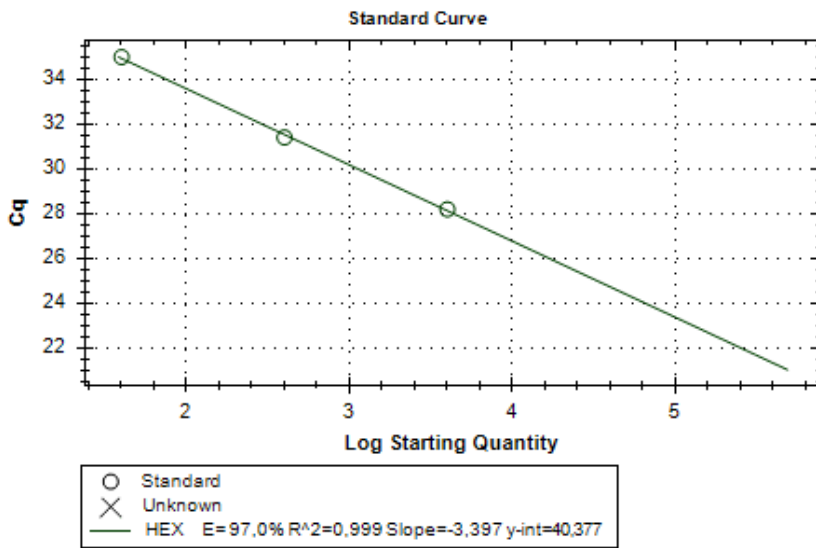
	10-3	10-4	10-5	10-6
PFU/ml	4000	400	40	4
MPXV (FAM)	27.69	31.16	36.08	ND
MPXV (VIC)	28.20	31.41	35	ND
PCR-CNR-LE OPV	26.34	30.36	32.84	35.82



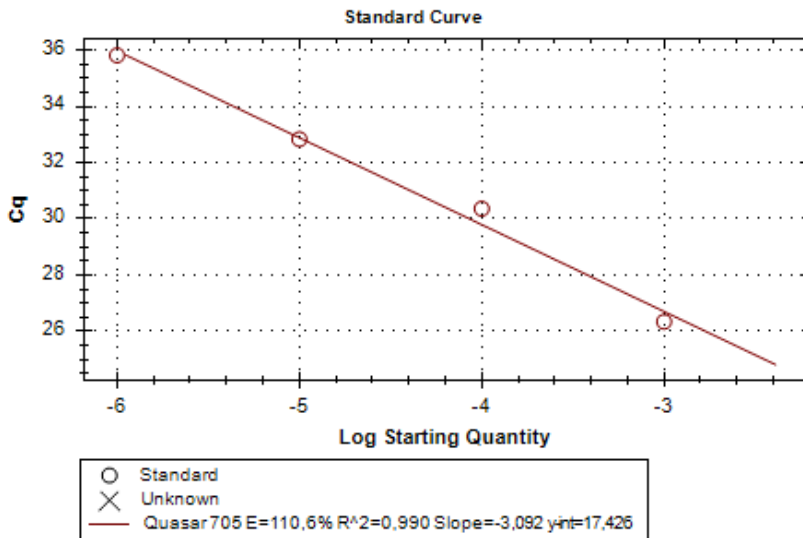
Cible 1



Cible 2



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

KIT validé pour la détection d'espèce Monkeypoxvirus.