



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 : *UltraGene Assay MonkeyPox Screening*

Fabricant : *Advanced Biological Laboratories (ABL) S.A.*

Mandataire : NA

Fournisseur : ABL Diagnostics S.A

Marquage : RUO

Ref : 188A50

Manuel : version 1.0.0 du 23/08/2022

Température de conservation --25°C à - 15 °C.

LOT: 188A50220801A

Matrices : oro pharyngé, cutané muqueux

Cibles	Fluorophore	Excitation	Emission
Cible 1 (MPXV)	FAM	495 nm	515 nm
Cible 2 (MPXV)	HEX	535 nm	555 nm
Cible 3 (CI)	Cy5	650 nm	670 nm

3 Conditions

Thermocycler : BioRad OPUS96 ref : 795BR03596

Volume de mixe PCR : 20µl

Volume ADN : 5µl

Cycle :

Etape	Température	Temps	cycle
1	95°C	5min	1 cycle
2	95°C	15sec	
	60°C	45sec*	40 cycles

**Résultat :**

N° de test : kit ABL1_2022-09-08 09-33-19_795BR03596

Validation du Run

Cibles	Fluorophore	THRESHOLD
Cible 1 (MPXV)	FAM	1447.22
Cible 2 (MPXV)	HEX	1203.25
Cible 3 (CI)	Cy5	421.49

Matrice :

Sondes	MPXV High	MPXV Low	CPXV	NRT	Positive Control du Kit	Negative control du Kit
Cible 1 (FAM)	20.35	21.63	ND	ND	24.07	ND
Cible 2 (HEX)	22.03	23.52	ND	ND	22.92	ND
Cible 3 (CY5)	31.89	ND	ND	ND	ND	ND
	VALIDE	VALIDE	VALIDE	VALIDE	VALIDE	VALIDE
PCR-CNR-LE OPV	19.6	36.5	ND	ND	NA	NA

ND : Non détecté

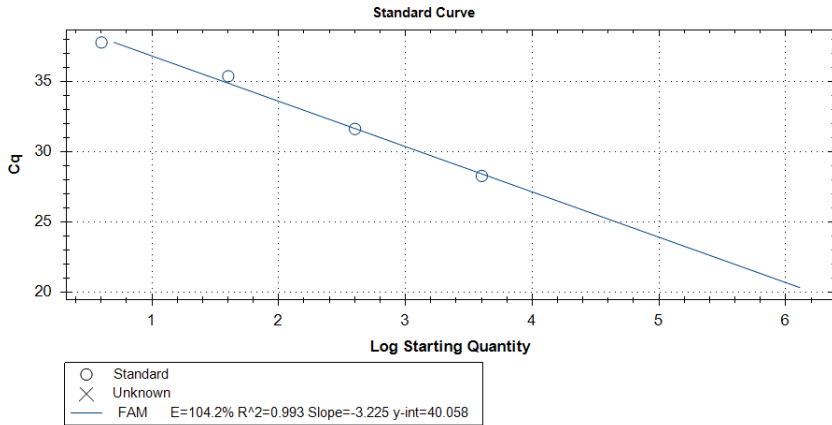
Gamme 06092022:

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

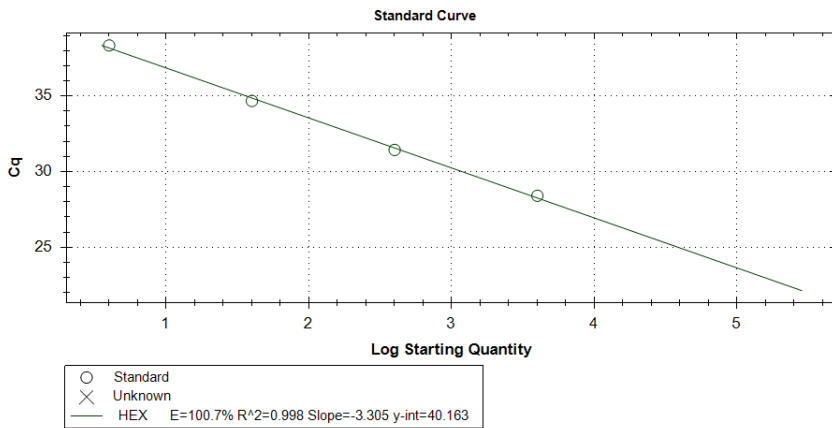
	10-3	10-4	10-5	10-6
PFU/ml	4000	400	40	4
MPXV (FAM)	28.30	31.64	35.39	37.80
MPXV (HEX)	28.28	31.30	34.52	38.10
	VALIDE	VALIDE	VALIDE	VALIDE
PCR-CNR-LE OPV	28.09	30.11	34.36	36.60



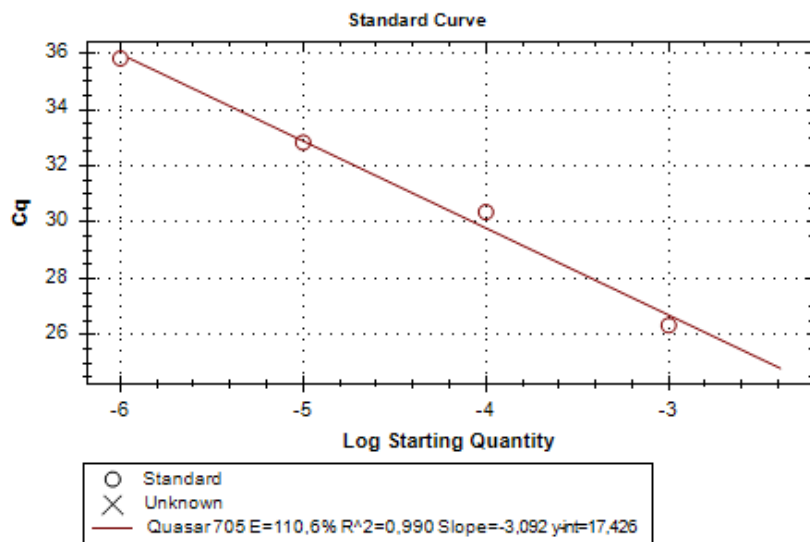
Cible 1 :



Cible 2 :



Gamme 06092022 MPXV : Kit CNR MPXV G2R G





IRBA INSTITUT DE RECHERCHE BIOMEDICALES DES ARMEES

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.