



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)

Contrôle interne : 10µl de SPCY 1/100.

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 (Fluorescence PCR method)*

Fabricant : *Bioteke Corporation (Wuxi) Co Ltd, Chine*

Fournisseur : Primadiag

Marquage : CE

Ref : PR2023-D

Manuel : V1.1 date de révision 01 Juin 2022

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

LOT: PR2023-D202213001

Matrices : serum/plasma, écouvillon gorge, salive, autre lésions.

Cibles	Fluorophore	Excitation	Emission
Monkeypox	FAM	495 nm	515 nm
Contrôle interne	Cy5	650 nm	670 nm

3 Conditions

Thermocycler : BioRad OPUS96 ref : 795BR03596

Volume de mixe PCR : 15µl

Volume ADN : 5µl

Cycle :

Etape	Température	Temps	cycle
1	95°C	2 min	1 cycle
2	95°C	10 sec	
	60°C	30 sec *	45 cycles



Résultat :

N° de Test : primadiagkitBIOTEKE_2022-07-22 14-02-06_795BR03596

Validation du Run

Contrôle positif		
FAM (MPV)	Ct<35	Threshold : 269.91
Cy5 (IC)	Ct<40	Threshold : 15.47
Contrôle négatif		
FAM	Ct>40	
Cy5	Ct<40	
Echantillon		
NEGATIF	Ct > 40(FAM) + Ct<40 (Cy5)	
POSITIF	Ct<40 (FAM) + Ct<40 (Cy5)	

Matrice :

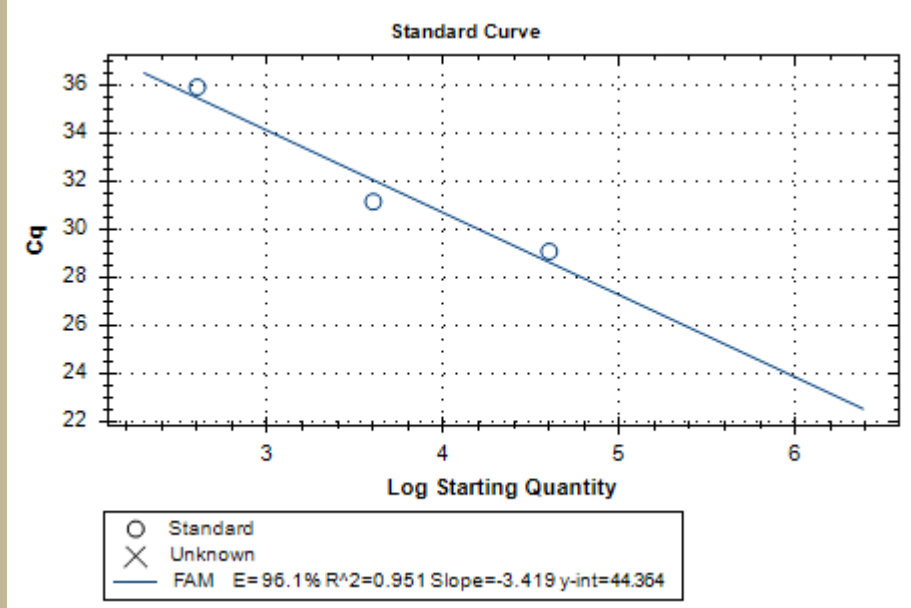
OPUS96	MPXV High	MPXV Low	CPXV	NRT	Positive Control du Kit	Negative control du Kit
MPXV (FAM)	22.53	36.50	ND	ND	28.69	ND
CI (Cy5)	27.33	28.92	ND	ND	32.04	ND
in house PCR	19.6	36.5	ND	ND	NA	NA

Gamme :

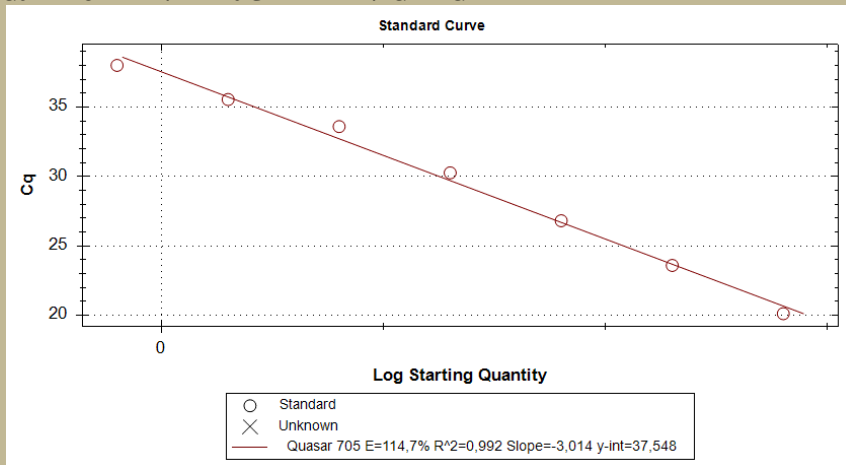
MPXV CNR2211C P2 Vero du 07/06/2022 Titre 4E6 PFU/ml

	10-3	10-4	10-5	10-6	10-7	10-8	10-9	10-10
PFU/ml	4000	400	40	4	0.4	0.04	0.004	0.0004
MPXV (FAM)	29.08	31.15	35.92	ND	ND	ND	ND	ND
CI (Cy5)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
in house PCR	26.81	30.26	33.60	35.55	38.01	ND	ND	ND

Gamme MPXV : Kit *Monkeypox virus nucleic acid detection kit (Fluorescence PCR method)*



Gamme MPXV : Kit CNR MPXV G2R G



CONCLUSION

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

Le kit détecte les échantillons primaires MPXV avec faible (Ct élevé) et fort (Ct faible).

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.

Le kit permet une détection de l'ADN du virus MPXV avec une détection limite de 40 PFU/ml.

KIT Validé.