



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 : *DI Monkeypox Virus Duplex*

Fabricant : *Innovative Diagnostics*

Mandataire : *N.A.*

Fournisseur : Innovative Diagnostics

Marquage : RUO

Ref : DIMPXV-50

Manuel : version [Insert_DIMPXV_ver0822_FR_doc3505] ; Guide de prise en main rapide OPUS 96

BioRad : version [V_DIMPXV_Opus_0822-1].

Température de conservation -26°C /-16°C.

LOT: 002

Matrices : Prélèvements oropharyngés ou cutanéomuqueux

Cibles	Fluorophore	Excitation	Emission
Cible 1(MPXV)	FAM	495 nm	515 nm
Cible 2 (CI)	Texas Red	585 nm	605 nm

3 Conditions

Thermocycler : BioRad OPUS96 ref : 795BR03596

Volume de mixe PCR : 15µl

Volume ADN : 5µl

Cycle :

Etape	Température	Temps	cycle
1	95°C	3min	1 cycle
2	95°C	10sec	
	60°C	30 sec *	40 cycles

**Résultat :**

N° de test : Kit_ID_2_2022-09-07 09-11-16_795BR03596

Validation du Run

Cibles	Fluorophore	THRESHOLD
Cible 1(MPXV)	FAM	3107.27
Cible 2 (CI)	Texas Red	511.30

Matrice :

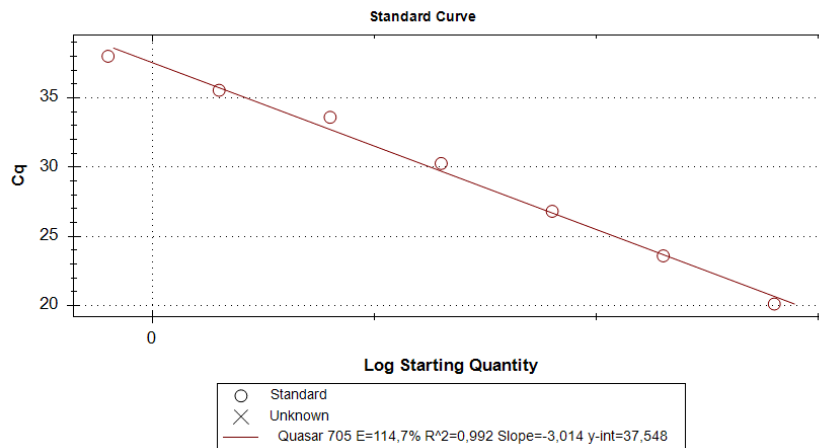
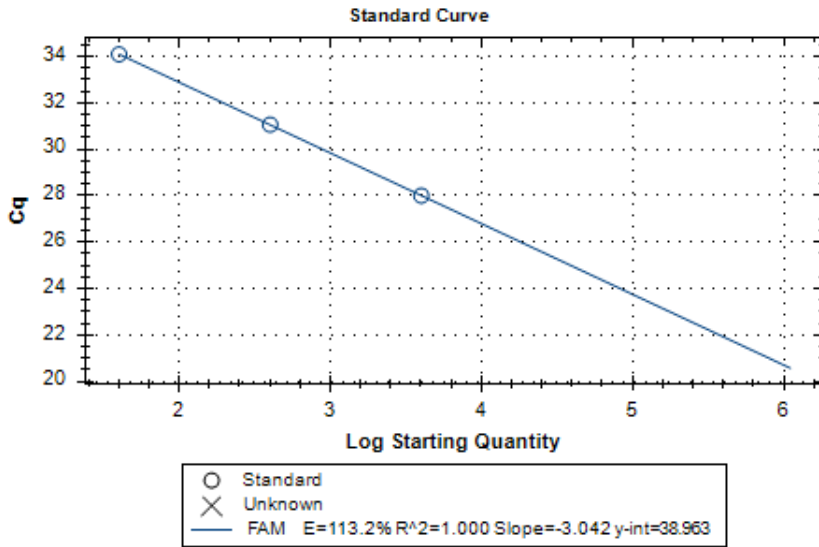
Sondes	MPXV High	MPXV Low	CPXV	NRT	Positive Control du Kit	Negative control du Kit
Cible 1 (FAM)	20.58	21.77	ND	ND	29.01	ND
Cible 2 (Texas Red)	25.36	28.26	33.28		28.05	ND
RESULTATS	VALIDE	VALIDE	VALIDE	VALIDE	VALIDE	VALIDE
PCR-CNR-LE OPV	19.6	36.5	ND	ND	NA	NA

ND : Non détecté

Gamme :

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	31.06	34.08	ND
	VALIDE	VALIDE	VALIDE	Non VALIDE
PCR-CNR-LE OPV	26.81	30.26	33.60	35.55



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.