



## 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 :** VIASURE Real Time PCR Detection Kit (CE)

**Fabricant :** Certest Biotec S.L (Espagne)

**Mandataire :-** N/A

**Fournisseur :** Servibio

**Marquage :** CE

**Ref :** VS-MPX113L

**Manuel :** IU-MPXenes0622.01

Température de conservation -30°C /-10°C.

**LOT: MPX113L-013**

Matrices : Prélèvements oropharyngés ou cutanéomuqueux

Cibles	Fluorophore	Excitation	Emission
Cible 1	FAM	495 nm	515 nm
Cible 2	HEX	535 nm	555 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	50 sec *	45 cycles



**Résultat :**

N° de test : Kit\_Viasure\_2022-10-06 10-31-07\_795BR03596

**Validation du Run**

Cibles	Fluorophore	THRESHOLD
Cible 1	FAM	706.34
Cible 2	HEX	361.67

**Matrice :**

Sondes	MPXV High	MPXV Low	CPXV	VACV	VACV	NRT	Positive Control du Kit	Negative control du Kit
Cible 1 (FAM)	20.31	21.87	ND	ND	ND	ND	24.57	ND
Cible 2 (HEX)	29.71	34.31	ND	34.01	ND	ND	26.11	ND
	VALIDE	VALIDE	VALIDE	VALIDE	VALIDE	VALIDE	VALIDE	VALIDE
PCR-CNR-LE OPV	19.6	36.5	ND	ND	ND	ND	NA	NA

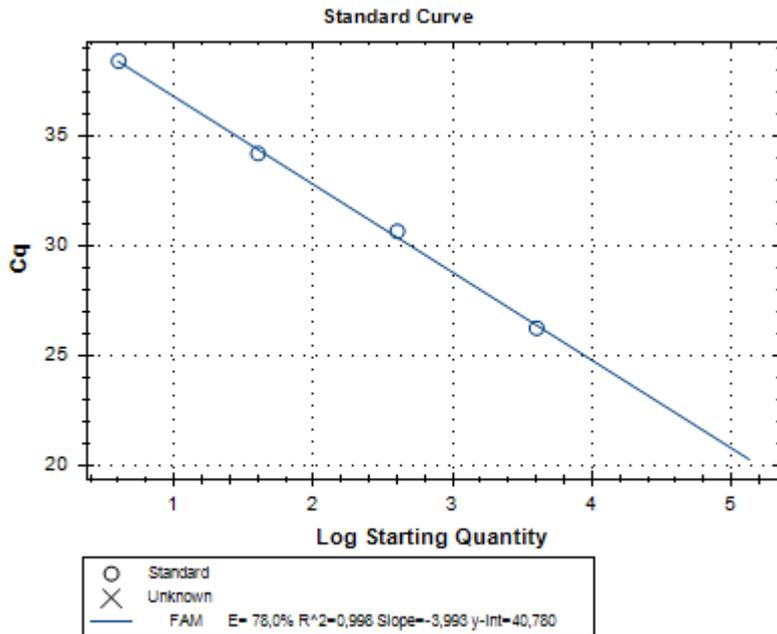
ND : Non détecté

**Gamme 06092022:**

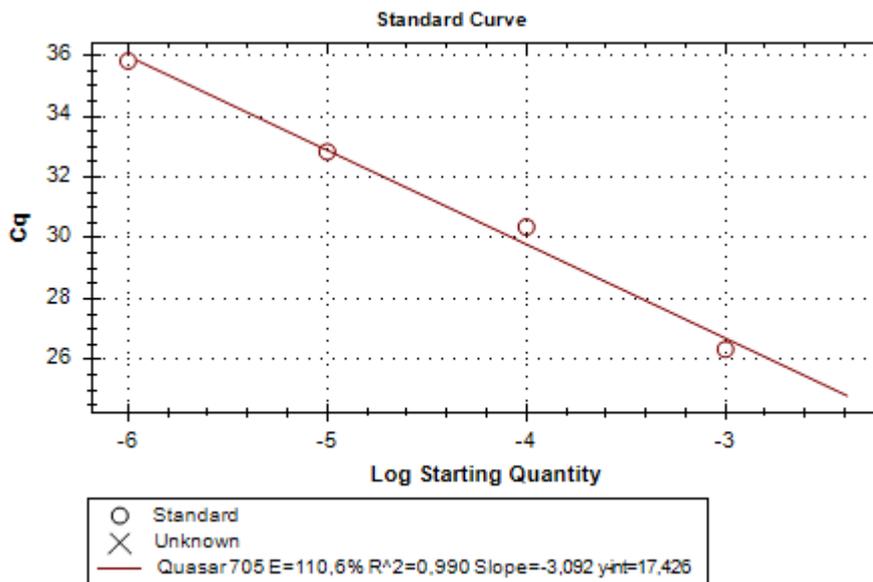
MPXV CNR2211C P2 Vero du 07/06/2022 Titre 4E6 PFU/ml

	10-3	10-4	10-5	10-6	10-7
PFU/ml	4000	400	40	4	0.4
Cible 1 (FAM)	26.27	30.67	34.21	38.40	ND
	VALIDE	VALIDE	VALIDE	VALIDE	VALIDE
PCR-CNR-LE OPV	28.09	30.11	34.36	36.60	ND

Gamme : MPXV : Kit *VIASURE Real Time PCR Detection Kit (CE)*



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 de détecte pas l'ADN du virus VACV

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.**