



## 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 qPCR Kit

**Fabricant** : BioeXsen GmbH

**Mandataire** :- N/A (Fabricant allemand)

**Fournisseur** : Takara Bio Europe - 34 Rue de la Croix de Fer, 78100 Saint-Germain-en-Laye

**Marquage** : CE

**Ref** : BX-MPV-25

**Manuel** : version 202206090852MK / Date de publication initiale : 2022-05-27 / Date de révision : 2022-06-09/Rev.01

Température de conservation -22 à -18 °C.

**LOT**: BX220628MPV

Matrices : Prélèvements oropharyngés ou cutanéomuqueux

| Cibles       | Fluorophore | Excitation | Emission |
|--------------|-------------|------------|----------|
| Cible 1 MPXV | FAM         | 495 nm     | 515 nm   |
| Cible 2      | HEX         | 535 nm     | 555 nm   |

### 3 Conditions

Thermocycler : BioRad OPUS96 ref : 795BR03596

Volume de mixe PCR : 7.5µl

Volume ADN : 2.5µl

Cycle :

| Etape | Température | Temps    | cycle            |
|-------|-------------|----------|------------------|
| RT    | 52°C        | 3min     | 1 cycle          |
| 1     | 95°C        | 3min     | 1 cycle          |
| 2     | 95°C        | 1 sec    |                  |
|       | 67°C        | 20 sec * | 12 cycles / -1°C |
| 3     | 95°C        | 1 sec    |                  |
|       | 55°C        | 20 sec   | 35               |



**Résultat :**

N° de test : kit-takara\_2022-10-11 11-16-39\_795BR03596

**Validation du Run**

| <b>Cibles</b> | <b>Fluorophore</b> | <b>THRESHOLD</b> |
|---------------|--------------------|------------------|
| Cible 1 MPXV  | FAM                | 309.63           |
| Cible 2       | HEX                | 674.68           |

**Matrice :**

| Sondes         | MPXV High | MPXV Low | CPXV   | VACV   | VACV   | NRT    | Positive Control du Kit | Negative control du Kit |
|----------------|-----------|----------|--------|--------|--------|--------|-------------------------|-------------------------|
| Cible 1 (FAM)  | 10.97     | 12.13    | ND     | ND     | ND     | ND     | 18.16                   | ND                      |
| Cible 2 (HEX)  | 16.61     | 19.58    | 33.19  | 29.20  | 29.94  | ND     | 18.69                   | ND                      |
|                | VALIDE    | VALIDE   | VALIDE | VALIDE | VALIDE | VALIDE | VALIDE                  | VALIDE                  |
| PCR-CNR-LE OPV | 19.6      | 36.5     | ND     | ND     | ND     | ND     | NA                      | NA                      |

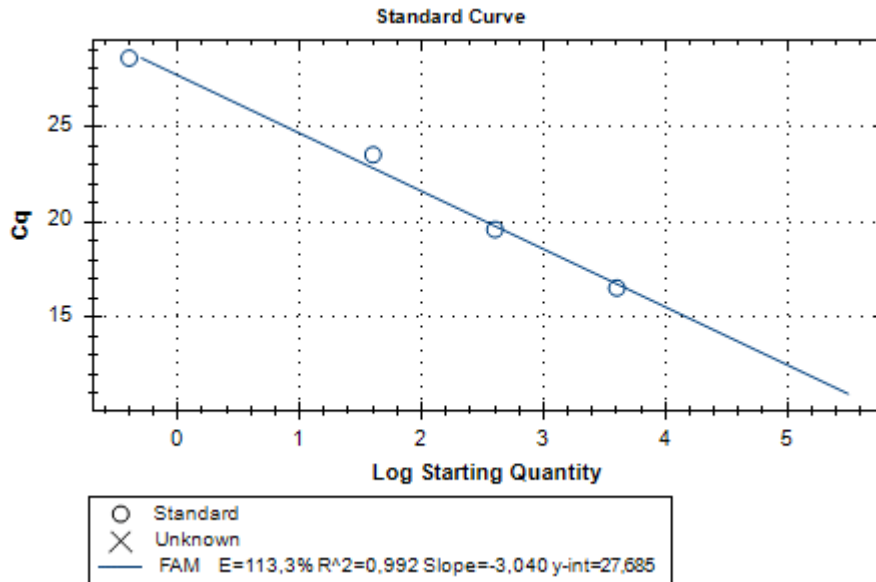
ND : Non détecté

**Gamme 06092022:**

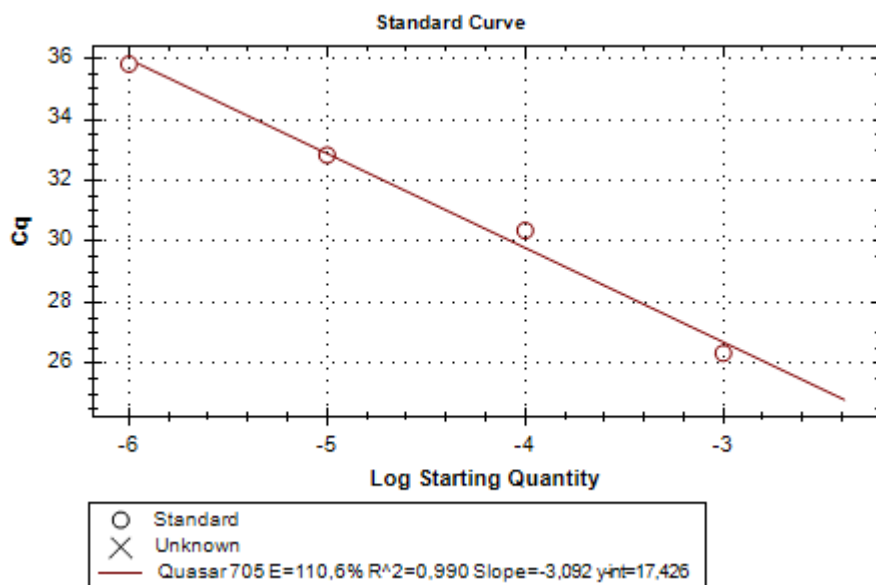
MPXV CNR2211C P2 Vero du 07/06/2022 Titre 4E6 PFU/ml

|                | 10-3   | 10-4   | 10-5   | 10-6  | 10-7   |
|----------------|--------|--------|--------|-------|--------|
| PFU/ml         | 4000   | 400    | 40     | 4     | 0.4    |
| Cible 1 (FAM)  | 16.52  | 19.59  | 23.52  |       | 28.59  |
|                | VALIDE | VALIDE | VALIDE |       | VALIDE |
| PCR-CNR-LE OPV | 28.09  | 30.11  | 34.36  | 36.60 | ND     |

Gamme : MPXV : Kit *Monkeypox Virus qPCR Kit*



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 ne détecte pas l'ADN du virus VACV

Le Kit permet une détection jusqu'à une équivalence de 0.4 PFU/ml d'ADN issu d'un surnageant de culture de MPXV.

**KIT validé pour la détection d'espèce Monkeypoxvirus.**