



## 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 :** *iSolutions MonkeyPox Fullplex qPCR*

**Fabricant :** *ID Solutions*

**Mandataire :** *NA*

**Fournisseur :** ID Solutions

**Marquage :** RUO

Ref : IS-MPXV-50

Manuel : -

Température de conservation -22°C /-15°C.

**LOT: P242 / P0722-01**

Matrices : Oro-pharyngés, cutanéomuqueux, croûtes cutanées.

Cibles	Fluorophore	Excitation	Emission
Cible 1 MPXV clade WA	FAM	495 nm	520 nm
Cible 2 MPXV clade CA	HEX (Yakima Yellow)	535 nm	556 nm
Cible 3 MPXV	Texas Red (ROX/CAL Fluor Red 610)	585 nm	605 nm
Cible 4 Orthopoxvirus	Cy5	646 nm	662 nm
Cible 5 Cible endogène	Cy5.5/Quasar705	683 nm	705nm

### 3 Conditions

Thermocycler : BioRad OPUS96 ref : 795BR03596

Volume de mixe PCR : 10µl

Volume ADN : 10µl

Cycle :

Etape	Température	Temps	cycle
RT	50°C	10min	1 cycle
1	95°C	2min	1 cycle
2	95°C	10 sec	
	60°C	30 sec *	40 cycles



**Résultat :**

N° de test : admin\_2022-08-09 14-41-51\_795BR03596\_ID Solutions\_2\_GFV\_20220809

**Validation du Run**

<b>Contrôle positif</b>		
Cible 1 MPXV clade WA	+	Threshold : 3470.87
Cible 2 MPXV clade CA	+	Threshold : 1312.01
Cible 3 MPXV	+	Threshold : 1727.47
Cible 4 Orthopoxvirus	+	Threshold : 869.66
Cible 5 Cible endogène	+	Threshold : 689.41
<b>Contrôle négatif</b>		
Cible 1 MPXV clade WA	-	
Cible 2 MPXV clade CA	-	
Cible 3 MPXV	-	
Cible 4 Orthopoxvirus	-	
Cible 5 Cible endogène	-	

**Matrice :**

Sondes	MPXV High	MPXV Low	CPXV	NRT	Positive Control du Kit	Negative control du Kit
Cible 1 MPXV clade WA	21.49	37.51	ND	ND	31.74	ND
Cible 2 MPXV clade CA	ND	ND	ND	ND	27.19	ND
Cible 3 MPXV	20.89	36.64	ND	ND	30.57	ND
Cible 4 Orthopoxvirus	17.54	33.18	27.31	ND	28.13	ND
Cible 5 Cible endogène	25.07	26.72	ND	ND	28.42	ND
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
Cible 1 MPXV clade WA	30.93	33.63	36.37	39.43
Cible 2 MPXV clade CA	ND	ND	ND	ND
Cible 3 MPXV	30.28	33.01	35.90	39.09
Cible 4 Orthopoxvirus	28.12	31.10	34.51	37.33
Cible 5 Cible endogène				
PCR-CNR-LE OPV	28.53	31.84	35.25	36.50

**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 détecte le genre orthopoxvirus et le clade du virus monkeypox.

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.**