

Monkeypox Virus Real Time PCR Kit

Kit pour la détection du Monkeypox virus ou variole du singe par PCR en
temps réel

REF Réf. MAD-003969M

 50 déterminations

Pour le diagnostic in vitro uniquement
Directive 98/79/CE



TABLE DES MATIÈRES

1	INTRODUCTION	3
2	UTILISATION PRÉVUE	3
3	COMPOSANTS	4
4	MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE REQUIS NON FOURNI.....	4
4.1	Réactifs et matériaux	4
4.2	Équipement	4
5	CONDITIONS DE STOCKAGE ET DE STABILITÉ.....	5
6	AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS.....	5
7	PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS	7
8	PROTOCOLE PCR.....	7
8.1	Préparation du mélange réactionnel.....	7
8.2	Configuration de l'instrument pour la PCR en temps réel	8
9	INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS.....	8
10	CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES	10
10.1	Sensibilité analytique	10
10.2	Spécificité analytique	11
10.3	Sensibilité et spécificité cliniques.....	12
10.4	Domaine de mesure	13
11	LIMITES DU TEST	13
12	SYMBOLES D'ÉTIQUETTE ET DE BOÎTE	14
13	SUIVI DES MODIFICATIONS	14



1 INTRODUCTION

Le virus de la variole du singe (MPXV) est un virus zoonotique à ADN double brin appartenant au genre *Orthopoxvirus* de la famille des *Poxviridae*. C'est l'un des orthopoxvirus qui infectent l'homme, comme le smallpox virus (VARV, à l'origine de la variole, qui a été éradiquée), le cowpox virus (CPXV) et le vaccinia virus (VACV ou VV, qui a été utilisé comme vaccin vivant et a été un outil clé dans l'éradication de la variole en 1980).

Le MPXV doit son nom au fait qu'il a été initialement détecté chez les singes. Ce virus est principalement présent chez les rongeurs, bien que des études supplémentaires soient nécessaires pour identifier le réservoir exact du virus et la façon dont il maintient sa circulation dans la nature.

Les signes cliniques de la variole du singe comprennent généralement de la fièvre, une éruption cutanée et un gonflement des ganglions lymphatiques et peuvent entraîner diverses complications médicales. La maladie est généralement à évolution limitée, avec des symptômes qui durent de deux à quatre semaines, bien qu'elle puisse provoquer une maladie grave.

Le MPXV se transmet à l'homme par contact étroit avec une personne ou un animal infecté, ou avec du matériel contaminé par le virus. La transmission de personne à personne se fait par contact étroit avec des lésions, des fluides corporels, des gouttelettes respiratoires et des matériaux contaminés tels que la literie.

Bien que le Monkeypox virus soit principalement présent dans les zones de forêt tropicale d'Afrique centrale et occidentale, il est sporadiquement exporté vers d'autres régions non endémiques. Du 13 mai au 10 juin 2022, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a reçu la notification de 1 423 cas confirmés de Monkeypox virus dans 31 États membres qui ne sont pas endémiques pour cette maladie. Cette épidémie est toujours en cours et nous nous attendons à ce que d'autres cas soient identifiés à mesure que les capacités de surveillance et de laboratoire seront mises en œuvre dans les pays non endémiques.

Pour la confirmation en laboratoire des échantillons provenant d'un cas suspect, l'Organisation Mondiale de la Santé recommande l'utilisation de tests d'amplification des acides nucléiques, tels que la réaction en chaîne par polymérase (PCR) en temps réel ou conventionnelle. Ces tests peuvent être génériques pour l'*Orthopoxvirus* ou spécifiques du Monkeypox virus, de préférence.

2 UTILISATION PRÉVUE

Le **Monkeypox Virus Real Time PCR Kit** est un kit qui permet la détection qualitative du virus responsable de la variole du singe, couvrant les variantes du bassin du Congo (Afrique centrale) et de l'Afrique de l'Ouest.

Le kit fonctionne à partir d'ADN extrait d'échantillons cliniques (écouvillons de surface et/ou exsudat de lésions cutanées, ainsi qu'écouvillons nasopharyngés ou oropharyngés) par PCR en temps réel en utilisant des amorces et des sondes spécifiques marquées par fluorescence pour les gènes cibles.

La cible pour la détection du Monkeypox virus est le gène F3L.



Des amorces spécifiques et une sonde fluorescente sont incluses pour la détection simultanée du gène de la Bêta-globine humaine comme contrôle de qualité interne du matériel de départ et d'amplification. Les canaux de détection des différentes cibles sont :

Cible	Fluorophore
Virus de la variole du singe	FAM
Bêta-globine	HEX/JOE/VIC

Tableau 1. Canaux de détection pour les différentes cibles du Monkeypox Virus Real Time PCR Kit.

Statut microbiologique : Produit non stérile.

3 COMPOSANTS

Le **Monkeypox Virus Real Time PCR Kit** est commercialisé sous la forme d'un mélange réactionnel ou Master Mix prêt à l'emploi qui comprend tous les réactifs nécessaires à la réalisation de la PCR en temps réel. De plus, afin d'éviter toute contamination avec les produits PCR précédents, le Master Mix contient l'enzyme Uracil-ADN Glycosylase (UDG), qui dégrade les produits PCR contenant du dUTP. Un tube servant de contrôle positif (Monkeypox virus PC) et de l'eau exempte de DNase/RNase (RNase/DNase free water) à inclure dans les contrôles négatifs (NTC), sont fournis avec le mélange PCR.

RÉFÉRENCE (DESCRIPTION)		CONTENU	QUANTITÉ
MAD-003969M-50 (Monkeypox virus MMIX)	MAD-003969-MIX (Monkeypox virus MMix)	ADN polymérase hot-start, Uracile ADN glycosylase, amorces, sondes fluorescentes, tampon de réaction, dNTPs (dATP, dCTP, dGTP, dTTP, dUTP)	1 flacon avec 50 tests (660 µL)
	MAD-DDW-200 (RNase/DNase free water)	---	1 flacon (200 µl)
MAD-MPXV (Monkeypox virus PC)		ADN synthétique non infectieux contenant une partie du génome du virus de la variole du singe et d'ADN humain	1 flacon (100 µl)

Tableau 2. Réactifs fournis dans le Monkeypox Virus Real Time PCR Kit.

4 MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE NÉCESSAIRE NON FOURNI

4.1 Réactifs et matériaux

- Gants jetables.
- Cônes de pipette avec filtres sans DNase/RNase.
- Kit d'extraction d'ADN.
- Tubes de PCR à barrettes / plaques PCR / films adhésifs pour plaques PCR, spécifiques pour chaque équipement de PCR en temps réel.

4.2 Équipement

- Hotte à flux laminaire.
- Microcentrifugeuse pour tubes de 1,5 ml.
- Microcentrifugeuse de tube PCR à barrettes ou de plaques PCR à 96 puits.
- Vortex.
- Pipettes automatiques : P1000, P200, P20 et P2.
- Instrument de PCR en temps réel.

Vitro S.A.

Calle Luis Fuentes Bejarano nº 60. Ed. Nudo Norte Local 3. 41020 Seville (Espagne). Téléphone : +34 954 933 200. vitro@vitro.bio ; www.vitro.bio



Rev. :
2022/06/28

4/14

5 CONDITIONS DE STOCKAGE ET DE STABILITÉ

Le **Monkeypox Virus Real Time PCR Kit** doit être transporté et conservé entre -10 °C* et -30 °C*¹. Néanmoins, outre le transport recommandé entre -10 °C et -30 °C, il est également possible de le transporter à une température de réfrigération (2 °C - 8 °C), à condition que la période de transit n'excède pas un maximum de dix jours. Dans tous les cas, le kit doit être conservé à une température comprise entre -10 °C et -30 °C dès sa réception.

Le mélange réactionnel **Monkeypox virus MMix** est sensible aux changements d'état physique et il a été prouvé qu'il supporte jusqu'à cinq cycles de congélation-décongélation. Si une série est effectuée avec un faible nombre d'échantillons, il est recommandé d'aliquoter le réactif à l'avance. Le mélange contient des molécules fluorescentes et doit être conservé à l'abri de la lumière directe. 6

Le contrôle positif est sensible aux changements d'état physique et il ne doit pas subir plus de huit cycles de congélation-décongélation. Il est conseillé de manipuler le flacon de contrôle positif séparément des échantillons cliniques afin d'éviter toute contamination potentielle qui pourrait donner de faux positifs.

S'ils sont conservés à la température recommandée, les réactifs PCR sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée. Les réactifs PCR doivent être stockés dans des endroits exempts de contamination par l'ADN ou par des produits de PCR.

*¹ Un indicateur de température est inclus dans l'emballage pour contrôler les conditions pendant l'expédition. En cas d'interruption de la chaîne du froid, il est recommandé de contacter le fabricant avant d'utiliser les réactifs.

6 AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

- Lisez le mode d'emploi avant d'utiliser ce produit.
- Le kit doit être manipulé par des techniciens qualifiés pour les techniques de biologie moléculaire appliquées au diagnostic.
- N'utilisez aucun des composants du kit après la date d'expiration.
- Le mélange Monkeypox virus MMix doit être décongelé avant utilisation et manipulé sur glace ou plaque froide et à l'abri de la lumière. Mélanger les solutions en retournant plusieurs fois les tubes sans les agiter en vortex, et centrifuger brièvement.
- Le contrôle positif doit être décongelé à température ambiante, bien mélangé et brièvement centrifugé avant utilisation.
- Les précautions de sécurité et d'élimination sont décrites dans la fiche de données de sécurité de ce produit. Ce produit est uniquement destiné à un usage professionnel en laboratoire, et n'est pas destiné à un usage pharmacologique, domestique ou tout autre type d'usage. La version actuelle de la fiche de données de sécurité de ce produit peut être téléchargée sur la page web www.vitro.bio ou demandée à l'adresse mail suivante : regulatory@vitro.bio.
- Le **Monkeypox Virus Real Time PCR Kit** utilise des acides nucléiques préalablement extraits et purifiés comme matériel de départ. Il est de la responsabilité du client d'inclure les contrôles nécessaires pour vérifier que le système d'extraction du matériel génétique utilisé fonctionne correctement.



- **Considérations générales pour éviter la contamination par les produits de PCR**

La source de contamination la plus importante est généralement le produit de PCR amplifié. Il est donc recommandé d'effectuer l'amplification et la manipulation des produits amplifiés dans une zone différente de celle où l'extraction de l'ADN et la préparation de la PCR sont effectuées. Il est recommandé de travailler dans des zones pré et post-PCR différentes; où la manipulation de l'ADN à tester et la préparation des tubes PCR (pré-PCR), et l'amplification et la manipulation des produits amplifiés (post-PCR) sont effectuées. Ces zones doivent être physiquement séparées et du matériel de laboratoire différent doit être utilisé (blouses de laboratoire, pipettes, embouts, etc.) pour éviter la contamination des échantillons par l'ADN amplifié, ce qui pourrait entraîner des diagnostics faussement positifs. Le flux de travail doit toujours aller dans une seule direction, de la zone pré-PCR à la zone post-PCR et jamais dans le sens inverse. Le flux de matériel et de personnel de la zone post-PCR vers la zone pré-PCR doit être évité. En outre, afin d'éviter la contamination avec les produits PCR précédents, l'enzyme *Uracil-DNA Glycosylase (UDG)*, qui dégrade les produits PCR contenant du dUTP, est incluse dans le kit.

Il est recommandé d'inclure des contrôles d'amplification négatifs remplaçant l'échantillon d'ADN par de l'eau exempte de RNase/DNase, afin de détecter et de contrôler toute contamination éventuelle des réactifs par les échantillons testés ou les produits amplifiés.

- **Élimination des déchets**

La manipulation des déchets générés par l'utilisation des produits commercialisés par Vitro S.A. doit être effectuée conformément à la loi applicable dans le pays dans lequel ces produits sont utilisés. À titre de référence, le tableau suivant indique la classification des déchets générés par ce kit selon la loi européenne, plus précisément selon la décision de la Commission européenne du 18 décembre 2014 modifiant la décision 2000/532/CE relative à la liste des déchets conformément à la directive 2008/98/CE du Parlement européen et du Conseil :

DÉCHETS POTENTIELS GÉNÉRÉS PAR L'UTILISATION DE CE PRODUIT	CODE ELW*2	TYPE DE DÉCHETS SELON L'ELW*2
1. Élimination des déchets liquides	161001	"Déchets liquides aqueux contenant des substances dangereuses" après ajout de 10% du volume total d'un agent désinfectant. Si la désinfection n'est pas effectuée, ces déchets doivent être considérés comme des "déchets dont le stockage et l'élimination sont soumis à des exigences particulières afin de prévenir les infections".
2. Matériel périssable (tubes, embouts, etc.) 3. Tout élément qui a été en contact avec le matériel génétique de départ.	180103	"Déchets dont la collecte et l'élimination sont soumis à des exigences particulières afin de prévenir les infections".
4. Récipient pour les réactifs utilisés classés comme dangereux (selon la fiche de données de sécurité).	150110	"Récipients contenant des déchets ou contaminés par des substances dangereuses".

Tableau 3. Classification des déchets générés par ce kit selon la législation européenne. *2 ELW : *European Legislation of Waste*.

*2 Note : Cette classification est incluse comme une directive générale d'action, étant sous la responsabilité finale de l'utilisateur l'accomplissement de toutes les réglementations locales, régionales et nationales sur l'élimination de ce type de matériaux.

7 PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

7.1 Collecte d'échantillons

Le **Monkeypox Virus Real Time PCR Kit** a été validé pour être utilisé avec du matériel génétique purifié provenant de divers types d'échantillons cliniques, tels que des écouvillons de surface et/ou des exsudats de lésions cutanées, ainsi que des écouvillons nasopharyngés ou oropharyngés.

Ce kit a été validé avec du matériel génétique de départ obtenu à partir des kits de purification et d'extraction d'ADN/ARN suivants*³ en commençant par **200 µl** d'échantillon et en éluant dans **100 µl** de tampon d'éluion (pour la purification avec **Opentrons**, commencer par **92 µl** d'échantillon clinique et éluer dans **60 µl** de solution d'éluion) :

KITS D'EXTRACTION	ÉQUIPEMENT D'EXTRACTION
QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN)	Manuelle
RNA/DNA pathogen extraction kit (Robot Opentrons OT2) (Vitro, réf. MAD-003955M)	Opentrons OT-2

Tableau 4. Kits d'extraction et instruments utilisés pour la purification de l'ADN/ARN à partir d'échantillons cliniques.

*³Note : Le système n'a pas été validé avec d'autres systèmes d'extraction d'ADN/ARN. Par conséquent, si un autre système de purification est utilisé, celui-ci doit être vérifié au préalable.

8 PROTOCOLE PCR

8.1 Préparation du mélange de réaction

La PCR est réalisée dans un volume final de 20 µl. Préparer le Master Mix comme indiqué ci-dessous :

- Décongeler et homogénéiser le **Monkeypox virus MMix** (ne pas utiliser de vortex). Une fois qu'il est décongelé, centrifuger brièvement.
- Mélangez dans chaque tube PCR, les volumes suivants pour chaque échantillon :

Réactif	V/test
Monkeypox virus MMix	12 µl
Echantillon	8 µl

Tableau 5. Préparation du mélange du Monkeypox Virus Real Time PCR Kit

- Inclure un **contrôle négatif** en ajoutant 8 µl de l'eau incluse dans le kit.
- Inclure un contrôle positif en ajoutant 8 µl du **contrôle positif ADN (MAD-MPXV)** inclus dans le kit.
- Centrifuger brièvement pour s'assurer qu'il n'y a pas de bulles d'air dans les puits.

Il est recommandé de conserver le MMix sur une plaque froide pendant la préparation des échantillons et de ne pas décongeler le flacon plus de cinq fois.



8.2 Configuration de l'instrument pour la PCR en temps réel

Saisir les différentes cibles et les canaux de détection pour chacune d'entre elles dans le logiciel de l'instrument. Créer les échantillons, le contrôle positif (PC), les cibles PCR (NTC) et attribuez les positions des échantillons dans la plaque PCR.

Programmer l'instrument de PCR en temps réel en suivant les étapes ci-dessous :

PROGRAMME PCR		
25°C	5 min	1 cycle
95°C	5 min	1 cycle
95°C	15 secondes	45 cycles
63°C*4	30 secondes	

Tableau 6. Programme de PCR du Monkeypox Virus Real Time PCR Kit

*4 Les données de fluorescence doivent être recueillies pendant la phase d'extension (*4) au moyen des canaux FAM (Monkeypox virus) et HEX, JOE ou VIC (Contrôle Interne).

Ce kit a été validé avec les plateformes :

- **QuantStudio™ 5** Real-Time PCR System (Applied Biosystems)
- **QuantStudio™ 3** Real-Time PCR System (Applied Biosystems)
- **CFX96™** Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad)
- **Vitrocycler** (Vitro S.A.)

Pour une utilisation dans d'autres plateformes, il est recommandé de vérifier la compatibilité des fluorochromes avec les canaux de détection de chaque plateforme, bien que les fluorochromes inclus dans le kit soient compatibles avec la majorité des instruments en temps réel les plus utilisés sur le marché.

Dans les thermocycleurs Applied Biosystems QuantStudio™ 3 et 5 Real-Time PCR System, l'option de contrôle passif ROX doit être désactivée.

Dans les thermocycleurs Applied Biosystems QuantStudio™ 3 et 5 Real-Time PCR System, sélectionnez "*Ramp Speed Standard*" dans le menu "Select New Experiment/Advanced Setup/Experiment Properties".

9 L'INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Avant d'interpréter les résultats des échantillons cliniques, il est nécessaire de suivre le guide d'interprétation des contrôles positifs et négatifs comme dans le tableau ci-dessous :

	RÉSULTAT	INTERPRÉTATION
Contrôle positif MPXV	Signal pour les canaux FAM et JOE/HEX/VIC* ⁵ .	Le contrôle/la réaction est correct(e)
	Aucun signal pour FAM et/ou JOE/HEX/VIC	Problème d'amplification : répéter l'analyse
Contrôle négatif	Signal pour les canaux FAM et/ou JOE/HEX/VIC	Contamination : répéter l'analyse
	Pas de signal	Le contrôle/la réaction est correct(e)

Tableau 7. Guide d'interprétation des contrôles du Monkeypox Virus Real Time PCR Kit.

*⁵ Le signal d'amplification doit être déterminé par une augmentation rapide et régulière des valeurs de fluorescence et non par des phénomènes de pic ou une augmentation progressive du signal de fond (fond irrégulier ou augmentation du bruit de fond) (Fig 1).

La série est considérée comme valide lorsque des résultats adéquats ont été obtenus pour tous les contrôles de la réaction.

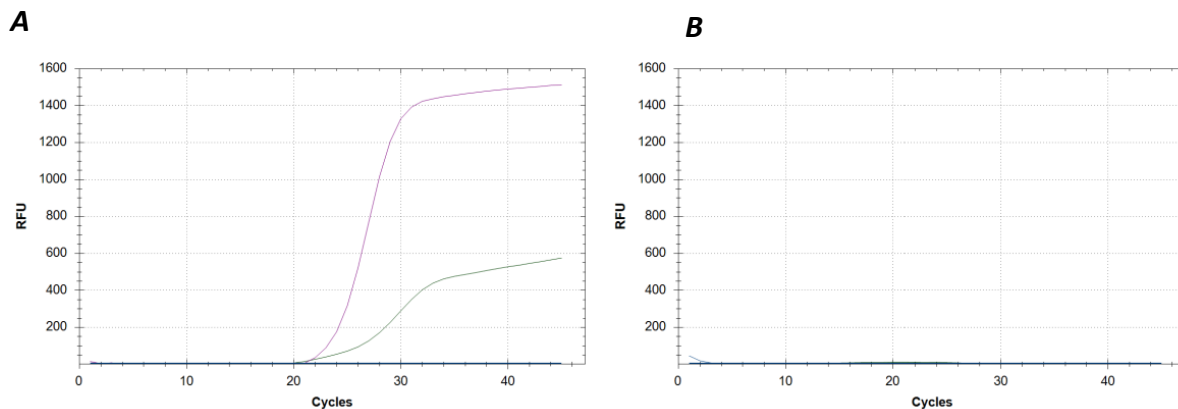


Figure 1 : Graphiques d'amplification d'un contrôle positif PC (A) et d'un contrôle négatif avec de l'eau NTC (B). Expérience réalisée sur le CFX96™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad). La courbe violette correspond à l'amplification de l'ADN du virus de la variole du singe et la courbe verte correspond à l'amplification du contrôle interne (Bêta-globine humaine).

Si la série a été validée, interprétez les résultats des échantillons cliniques selon le tableau suivant :

FAM	JOE/HEX/VIC	Résultat
+	+	Présence du virus de la variole du singe
-	+	Echantillon négatif
-	-	Echantillon dégradé

Tableau 8. Guide d'interprétation des résultats obtenus avec le Monkeypox Virus Real Time PCR Kit.

Les figures ci-dessous montrent les courbes d'amplification attendues dans chaque cas :

Présence du virus de la variole du singe

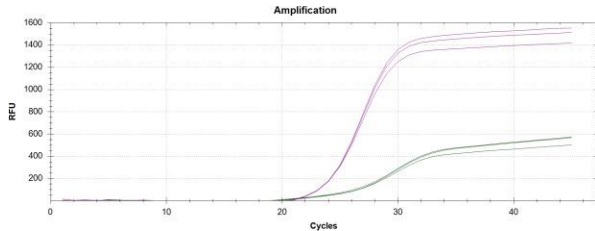


Figure 2 : Courbes d'amplification du virus de la variole du singe

Échantillon négatif

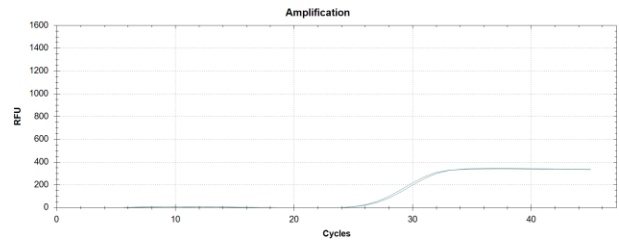


Figure 3 : Échantillon négatif

10 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

10.1 Sensibilité analytique

La sensibilité analytique du Monkeypox Virus Real Time PCR Kit a été déterminée en effectuant huit dilutions en série de fragments synthétiques du gène F3L à une concentration connue.

L'efficacité de l'amplification pour le gène cible F3L a été évaluée avec huit dilutions en série d'un fragment synthétique du gène F3L de 10^8 copies/rxn jusqu'à 10 copies/rxn.

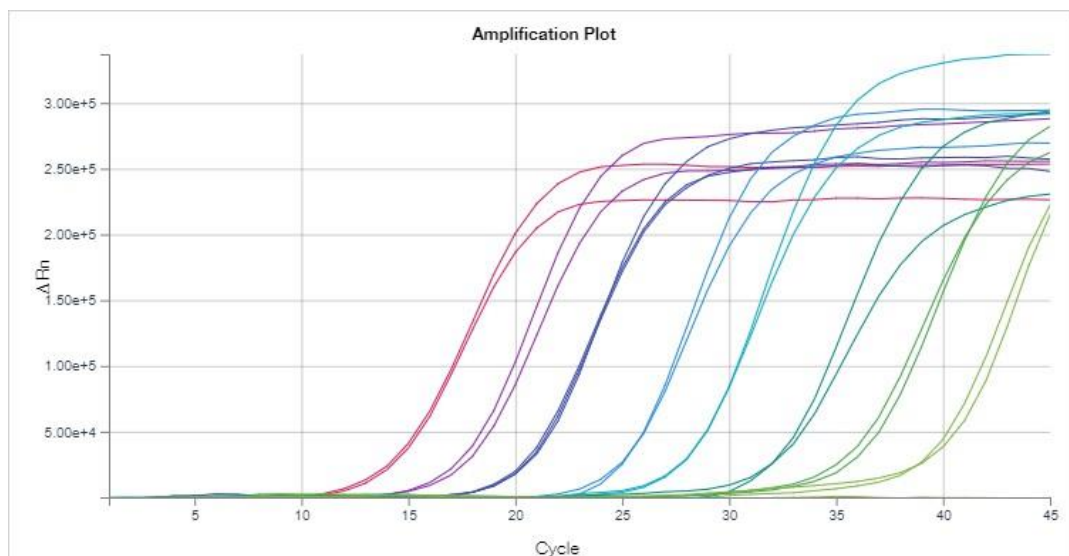


Figure 4 : Dilutions en série de 10^8 copies/réaction jusqu'à 10 copies/réaction d'un fragment synthétique du gène F3L dans le canal FAM. Expérience réalisée sur le QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System (Applied Biosystems).

En ajustant les données Cts à une ligne, l'efficacité de l'amplification, R^2 et la pente ont été déterminés pour ce gène.

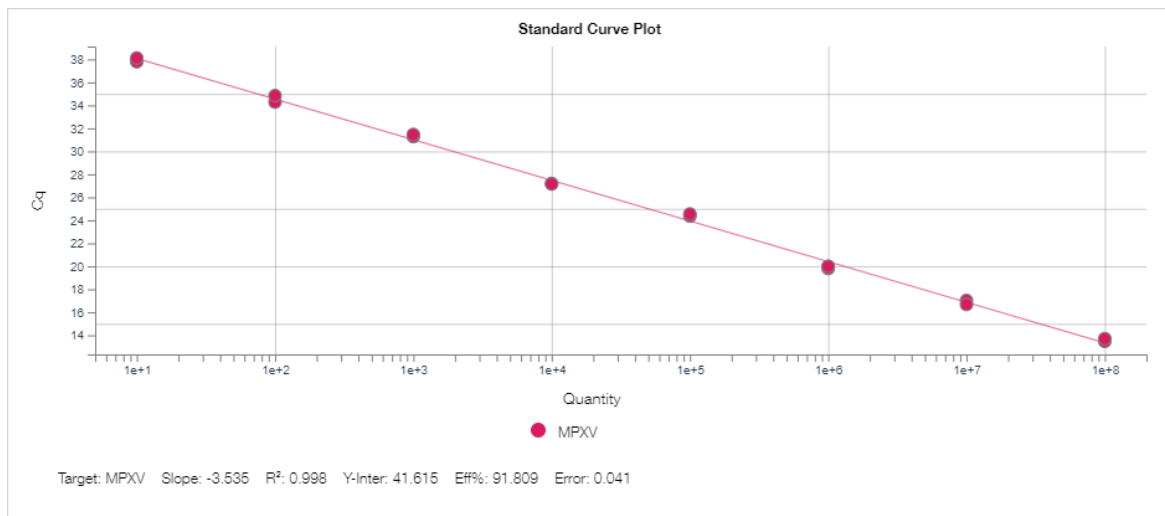


Figure 5 : Courbe d'étalonnage du gène F3L dans le canal FAM

Le gène F3L a montré une efficacité d'amplification de 91,81 %, un R² de 0,998 et une pente de -3,535.

Il a été établi que le Monkeypox Virus Real Time PCR Kit a une limite de détection de 10 copies/réaction pour le gène cible F3L.

10.2 Spécificité analytique

La spécificité analytique du kit PCR en temps réel du virus du Monkeypox a été confirmée *in silico*, en utilisant des séquences d'ADN provenant des bases de données, et en ajoutant de l'ADN humain au Master Mix. Il a également été vérifié que l'ajout au Master Mix d'ADN extrait d'échantillons cliniques positifs pour les micro-organismes spécifiés dans le tableau ci-dessous n'a donné aucun résultat faussement positif.

La spécificité du Monkeypox Virus Real Time PCR Kit est de 100 %.

Test de réactivité croisée	
Micro-organisme	Résultats
<i>Candida albicans</i>	Négatif
<i>Chlamydia trachomatis</i>	Négatif
<i>Enterococcus faecalis</i>	Négatif
<i>Enterococcus faecium</i>	Négatif
<i>Escherichia coli</i>	Négatif
HSV-1	Négatif
HSV-2	Négatif
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Négatif
<i>Mycobacterium avium</i>	Négatif
<i>Mycobacterium bovis</i>	Négatif
<i>Mycobacterium kansasii</i>	Négatif
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Négatif
<i>Mycoplasma genitalium</i>	Négatif

<i>Mycoplasma hominis</i>	Négatif
<i>Mycoplasma genitalium</i>	Négatif
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Négatif
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Négatif
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Négatif
<i>Ureaplasma parvum</i>	Négatif
ADN humain	Négatif

Tableau 9. Micro-organismes testés dans le cadre du test de spécificité

10.3 Sensibilité et spécificité cliniques

La capacité de diagnostic du Monkeypox Virus Real Time PCR Kit a été évaluée en étudiant sa sensibilité et sa spécificité de diagnostic. Ces deux paramètres sont définis et calculés comme suit :

- La spécificité est exprimée en pourcentage (fraction numérique multipliée par 100), calculée comme suit : $100 \times \frac{\text{nombre de vraies valeurs négatives (TN)}}{\text{nombre de vraies valeurs négatives (TN)} + \text{nombre de fausses valeurs positives (FP)}}$, ou $100 \times \text{TN}/(\text{TN} + \text{FP})$.
- La sensibilité est exprimée en pourcentage (fraction numérique multipliée par 100), calculée comme suit : $100 \times \frac{\text{nombre de valeurs positives vraies (TP)}}{\text{nombre de valeurs positives vraies (TP)} + \text{nombre de valeurs négatives fausses (FN)}}$, ou $100 \times \text{TP}/(\text{TP} + \text{FN})$.

La performance diagnostique du Monkeypox Virus Real Time PCR Kit a été déterminée par l'analyse d'un total de 32 échantillons cliniques, dont 10 étaient négatifs et 22 positifs, parmi lesquels 2 provenaient de personnes présentant une infection confirmée par le virus de la variole du singe. Les 20 échantillons positifs restants ont été préparés en ajoutant de l'ADN génomique du virus de la variole du singe à 20 échantillons cliniques provenant de différents individus sains.

L'ADN de ces 32 échantillons a été analysé en parallèle avec le Monkeypox Virus Real Time PCR Kit et avec l'une des méthodes recommandées par l'OMS (Li, Y., Zhao, H., Wilkins, K., Hughes, C. et Damon, I.K. 2010. *Real-Time PCR assays for the specific detection of monkeypox virus West African and Congo Basin strain DNA*. Journal of virological methods. 2010 ; 169 (1) : 223-7), qui a été prise comme méthode de référence pour l'étude comparative.

Le Monkeypox Virus Real Time PCR Kit a évalué correctement les 32 échantillons, affichant une sensibilité et une spécificité diagnostiques de 100 %.

Organisme	TN	FP	TP	FN	Spécificité du diagnostic	IC À 95	Sensibilité du diagnostic	IC À 95
<i>Virus de la variole du singe</i>	10	0	22	0	100%	65,54 - 100%	100%	81.5 - 100 %

Tableau 10. Spécificité et sensibilité cliniques du Monkeypox Virus Real Time PCR Kit.



Organisme	TN	FP	TP	FN	VPP	IC À 95	VPN	IC À 95
<i>Virus de la variole du singe</i>	10	0	22	0	100%	81.5 - 100 %	100%	65,54 - 100%

Tableau 11. Valeur prédictive positive et valeur prédictive négative du Monkeypox Virus Real Time PCR Kit.

Note : les résultats des spécifications (sensibilité et spécificité) déclarés correspondent au nombre total d'échantillons testés et la valeur peut varier en fonction du type d'échantillon.

10.4 Domaine de mesure

La plage de mesure du test a été déterminée en utilisant des triplicats de dilutions sérielles de 10^8 copies/réaction à 10 copies/réaction d'un fragment d'ADN synthétique du gène F3L, avec 5 ng d'ADN génomique humain.











Le Monkeypox Virus Real Time PCR Kit permet de détecter de 10^8 à 10 copies par réaction de l'ADN du virus de la variole du singe.

11 LIMITES DE L'ESSAI

1. Les résultats du test doivent être évalués par un professionnel de la santé dans le contexte des antécédents médicaux, des symptômes cliniques et des autres tests de diagnostic.
2. Ce test peut être utilisé avec différents types d'échantillons, bien qu'il n'ait été validé qu'avec de l'ADN extrait de culture et d'exsudat de lésion cutanée.
3. Le bon fonctionnement du test dépend de la qualité de l'échantillon ; l'acide nucléique doit être correctement extrait des échantillons cliniques. Un prélèvement, un stockage et/ou un transport inappropriés des échantillons peuvent entraîner des faux négatifs.
4. Un faible nombre de copies de la cible, inférieur à la limite de détection, peut être détecté, mais les résultats peuvent ne pas être reproductibles.
5. Un test positif pour le virus de la variole du singe n'exclut pas la possibilité que d'autres agents pathogènes soient présents dans l'échantillon clinique.
6. Le test fonctionne dans les régions génomiques dans lesquelles les sondes ont été conçues.



12 SYMBOLES D'ÉTIQUETTES ET DE BOÎTES

	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>		Date d'expiration
	Référence catalogue		Limite de température
	Numéro de lot		Fabricant
	Se référer au mode d'emploi		Contenu suffisant pour <n>essais
	Fiche de données de sécurité		Tenir à l'écart de la lumière du soleil

13 SUIVI DES MODIFICATIONS

Date	Description
2022/06/28	<ul style="list-style-type: none"> Création du document.