

## PROTOCOLE d'infection du virus Covid-19 dans les cellules VERO E6

Date :

Dégel des cellules VERO E6 par Tonya Roy et mis dans flacons F25 avec MEM 2%

Date : 2020-03-11

Passage des cellules VERO E6 dans du milieu de croissance DMEM 2%

1 flacon de  $1 \times 10^6$

1 flacon  $2 \times 10^6$

2 flacons  $0,5 \times 10^6$

Date : 2020-03-13

Inoculation du spécimen L00214517 dans le flacon  $1 \times 10^6$

Flacon confluent à 90%

Retrait du milieu de croissance DMEM

Lavage des cellules avec PBS influenza

100ul de spécimen + 900ul de milieu de maintien DMEM directement sur les cellules dans le flacon. Contact 60 minutes, légères agitation aux 20 minutes.

Ajout de 9 ml de milieu de maintien DMEM.

Date : 2020-03-16

Lecture du flacon infecté

50% des cellules flottent, rondes et boursouflées

50% du feuillet est attaché au flacon

Voir photos dans le fichier secure /partage/virologie/corona virus 2020

20ul du surnageant mis dans 2 ml de solution de lyse pour analyser au PCR

Date : 2020-03-17

Lecture du flacon infecté

70% des cellules sont détachées

30% du feuillet est attaché au flacon, feuillet affiche l'effet cytopathique du virus

Voir photos dans le fichier secure /partage/virologie/corona virus 2020

2 flacons F25 à  $0,5 \times 10^6$  cellules VERO E6

Retrait du milieu de croissance DMEM

Lavage des cellules avec PBS influenza

1 flacon ajout de 10 ml de milieu de maintien DMEM 2% pour contrôle négatif

1 flacon ajout de 500ul de surnageant de l'infection + 500ul de milieu de maintien.

Contact 60 minutes, légères agitation aux 20 minutes.

Ajout de 9 ml de milieu de maintien DMEM.

Récolte du reste du surnageant du flacon infecté, 7 cryovials d'environ 1,5ml

Congélateur -80C au local 1.253 portoir 2 position 1.

Sylvie Nancy Beaulac