



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 : *Kit de détection du virus Monkeypox (PCR par fluorescence)*

Fabricant : Zhejiang Orient Gene Biotech Co.,LTD

Mandataire: CMC Medical Devices & Drugs S.L

Fournisseur : Laboratoire Nephrotek

Marquage : CE

Ref : AMPV01D

Manuel : Version 1.0 – May 2022

Température de conservation /+35°C.

LOT: YF2207001

Matrices : Écouvillons oropharyngés, écouvillons nasopharyngés, sérum, plasma et échantillons humains d'éruption pustuleuse ou vésiculeuse.

Cibles	Fluorophore	Excitation	Emission
Cible 1	FAM	495 nm	515 nm
Cible 2	VIC	538 nm	554 nm

3 Conditions

Thermocycler : BioRad OPUS96 ref : 795BR03596

Volume de mixe PCR : lyophilisé

Volume ADN : 23µl

Cycle :

Etape	Température	Temps	cycle
RT	50°C	2min	1 cycle
1	95°C	2min	1 cycle
2	95°C	5 sec	
	58°C	30 sec *	40 cycles
3	37°C	1 sec	



Résultat :

N° de test : 2022-08-09 17-03-46_795BR03596_Nephrotek (2)_GFV_20220809

Validation du Run

Contrôle positif		
Cible 1 (FAM) MPXV	Ct<38.5	Threshold : 3719.23
Cible 2 (VIC) Contrôle Interne	Ct<36	Threshold : 1274.04
Contrôle négatif		
Cible 1 (FAM) MPXV	Ct>38.5	
Cible 2 (VIC) Contrôle Interne	Ct>36	
Echantillon		
Positif	Ct<38.5 (FAM) Ct<36 (VIC)	
Négatif	Ct>38.5 (FAM) Ct<36 (VIC)	

Matrice :

Sondes	MPXV High	MPXV Low	CPXV	NRT	Positive Control du Kit	Negative control du Kit
Cible 1 (FAM)	18.19	33.81	ND	ND	26.58	ND
Cible 2 (VIC)	22.99	25.23	ND	ND	28.71	ND
PCR-CNR-LE OPV	19.6	36.5	ND	ND	NA	NA

ND : Non détecté

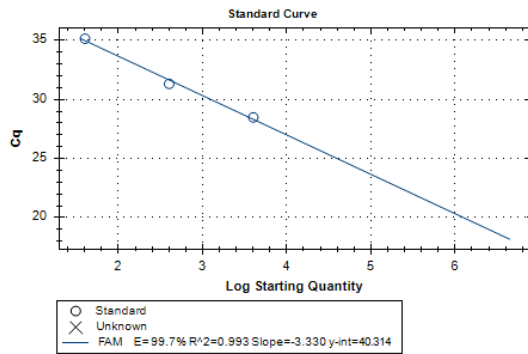
Gamme :

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

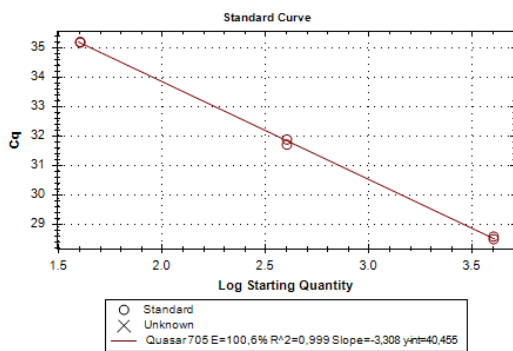
	10-3	10-4	10-5	10-6
PFU/ml	4000	400	40	4
MPXV (FAM)	28.51	31.34	35.17	37.02
PCR-CNR-LE OPV	28.53	31.84	35.25	36.50



Gamme : MPXV : Kit NOM



Gamme 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 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 Monkeypox.