



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)

Contrôle interne : 10µl de SPCY 1/100.

Extraction manuelle avec un volume d'élution de 200µl.

Kit QIAamp DNA mini kit : Ref :51304

Lot : 172023567

2 Kit PCR

Nom : *EurobioPlex Monkeypox Screening Test*

Fabricant : Eurobio

Fournisseur : Eurobio

Marquage : RUO

Ref : **EBX-060-**

Manuel : **EBX-060-v1.00_RUO**

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

LOT: 300724 20221214

Matrices : sérum/ exsudat de lésion.

Cibles	Fluorophore	Excitation	Emission
Monkeypox (MPXV)	FAM	495 nm	515 nm
Measles	HEX	535 nm	555 nm
VZV	Texas Red	585 nm	605 nm
Contrôle interne (CI)	Cy5	650 nm	670 nm

3 Conditions

Thermocycler : BioRad OPUS96 ref : 795BR03596

Volume de mixe PCR : 10µl

Volume ADN : 5µl

Cycle :

Etape	Température	Temps	cycle
RT	45°C	5min	1 cycle
1	98°C	20sec	1 cycle
2	98°C	3 sec	
	58°C	10 sec *	40 cycles



Résultat :

N° de test : Eurobio_2022-07-05 11-24-40_795BR03596

Validation du Run

Contrôle positif		
FAM	Ct<32	NI
HEX	Ct<32	20.59
Texas Red	Ct<32	20.36
Cy5	Ct<32	21.84
Contrôle négatif		
FAM	Ct non déterminé	NI
HEX	Ct non déterminé	NI
Texas Red	Ct non déterminé	NI
Cy5	Ct non déterminé	NI
Echantillon		
MPXV	Ct + = POSITIF	Ct - = NEGATIF
CI	Ct +/-	Ct - = Interprétation impossible

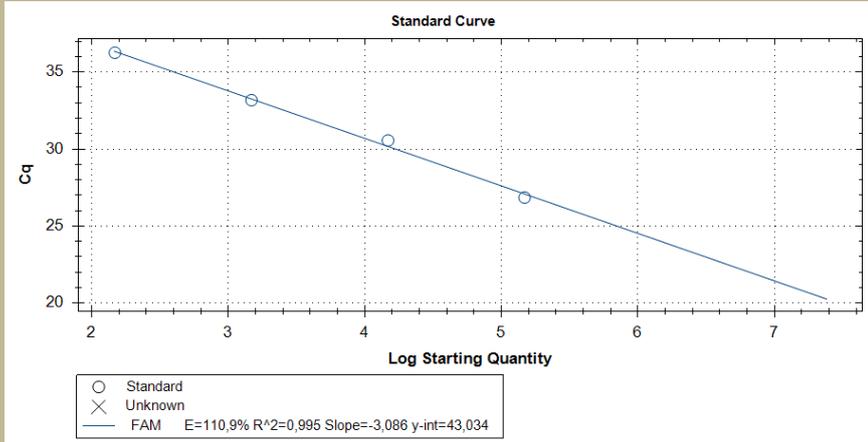
Matrice :

Sondes	MPXV High	MPXV Low	CPIXV	NRT	Positive Control du Kit	Negative control du Kit
MPXV (FAM)	18.87	37.96	NI	NI	NI	NI
CI (VIC)	26.37	28.03	NI	NI	21.84	NI
Measles (HEX)	NI	NI	NI	NI	20.59	NI
VZV (Texas Red)	NI	NI	NI	NI	20.36	NI
in house PCR	19.6	36.5	NI	NI	NA	NA

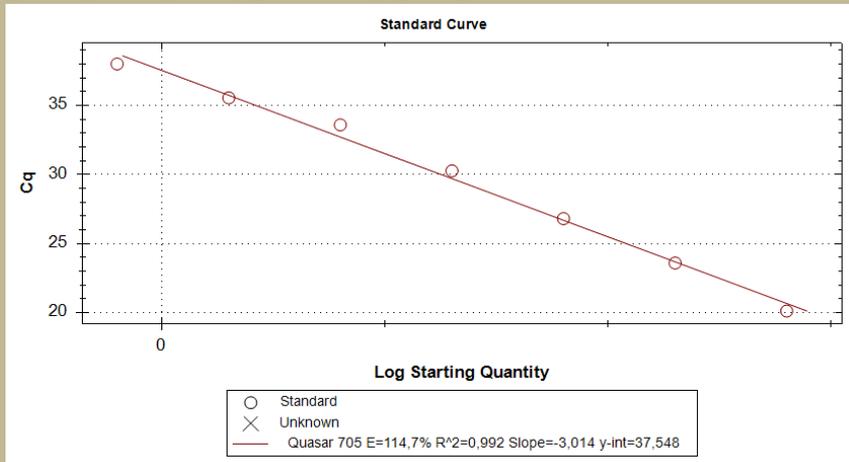
Gamme :

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

	10-3	10-4	10-5	10-6	10-7	10-8	10-9	10-10
PFU/ml	4000	400	40	4	0.4	0.04	0.004	0.0004
MPXV (FAM)	26.75	29.24	31.87	35.68	NI	NI	NI	NI
in house PCR	26.81	30.26	33.60	35.55	38.01	NA	NA	NA



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, mais la limite de détection du kit est inférieure de 1 log par rapport au test PCR de référence.