

# Speciální přílohy pro High Pure Viral Nucleic Acid Kit

11 858 874 001  
Pro diagnostiku *In Vitro*



affigene





---

# Obsah

<b>1</b>	<b>Úvodní informace pro tuto přílohu .....</b>	<b>5</b>
<b>2</b>	<b>Požadavky na vzorek .....</b>	<b>7</b>
<b>3</b>	<b>Požadovaný materiál .....</b>	<b>8</b>
<b>4</b>	<b>Upozornění a bezpečnostní zásady .....</b>	<b>9</b>
<b>5</b>	<b>Pracovní postup .....</b>	<b>10</b>



# 1 Úvodní informace pro tuto přílohu

**Co je High Pure Viral Nucleic Acid Kit?** High Pure Viral Nucleic Acid Kit je souprava pro extrakci a purifikaci virových nukleových kyselin z humánních klinických vzorků.

**Značka CE pro celý proces** Pro celý proces od přípravy vzorku pomocí High Pure Viral Nucleic Acid Kit a analýzy PCR v reálném čase platí značka CE pro LightCycler® CMV Quant Kit, LightCycler® HSV 1/2 Qual Kit a LightCycler® VZV Qual Kit, jak je specifikováno v uživatelském návodu pro PCR sadu.

**Reference:** Uživatelské návody pro sadu LightCycler®, které jsou označeny značkou CE, v kombinaci s High Pure Viral Nucleic Acid Kit při použití v souladu s touto přílohou.

**Co je součástí této sady?** High Pure Viral Nucleic Acid Kit zahrnuje všechny potřebné reagenty pro úplnou přípravu vzorku virových nukleových kyselin s výjimkou ethanolu. PCR analýza v reálném čase prováděná podle této zvláštní přílohy vyžaduje zahrnutí interní kontroly a kontroly slepým vzorkem. Tyto položky jsou dodávány se sadou PCR pro vyšetření v reálném čase.

**Poznámka:** Interní kontrola a kontrola slepým vzorkem jsou součástí LightCycler® CMV Quant Kit, LightCycler® HSV 1/2 Qual Kit a LightCycler® VZV Qual Kit. Tyto sady mají značku CE v kombinaci s High Pure Viral Nucleic Acid Kit.

**Tento uživatelský návod** Tato zvláštní příloha se týká extrakce a purifikace virových nukleových kyselin z humánních klinických vzorků.

**Poznámka:** Tato příloha se musí používat v celém procesu se značkou CE při použití LightCycler® CMV Quant Kit, LightCycler® HSV 1/2 Qual Kit nebo LightCycler® VZV Qual Kit.

**Reference:** Informace o zesílení a analýze naleznete v příbalovém letáku příslušné sady LightCycler®.

**Popis postupu testu** Tato tabulka popisuje různé fáze úplného postupu testu.

**Table 1.1**

Fáze	Popis
Příprava vzorku	Klinické vzorky se připravují pomocí High Pure Viral Nucleic Acid Kit.

---

<b>Fáze</b>	<b>Popis</b>
Příprava zesílení, detekce a analýza	Příprava zesílení, detekce a analýza výsledků se provádí podle uživatelského návodu pro každou PCR analýzu v reálném čase. <b>Reference:</b> Uživatelské návody pro PCR analýzu v reálném čase.

**Zamýšlené použití**

Tato zvláštní příloha pro High Pure Viral Nucleic Acid Kit je určena pro extrakci virové nukleové kyseliny ze vzorků lidské plasmy (EDTA, ACD), celé krve (EDTA), CSF a výtěrů ve fyziologickém roztoku použitým jako transportní médium podle uživatelského návodu pro každou sadu PCR.

**Analýza PCR v reálném čase.** Izolovaný a vyčištěný vzorek určený pro analýzu pomocí LightCycler® CMV Quant Kit, LightCycler® HSV 1/2 Qual Kit nebo LightCycler® VZV Qual Kit.

**Neměňte vzorkovací matici.** Pro analýzy, pro které je možné použít více než jednu vzorkovací matici, se přesto doporučuje používat stejnou vzorkovací matici během celého monitorování/testování každého pacienta.

**Pro profesionální použití** High Pure Viral Nucleic Acid Kit je určen pouze pro použití odborně způsobilými nebo řádně vyškolenými pracovníky.

---

---

## 2 Požadavky na vzorek

---

### Doporučené zkumavky pro odběr vzorku

Pro vzorky plasmy se doporučuje použít zkumavky ACD (žluté víčko, Becton-Dickinson #367756 nebo ekvivalentní) nebo EDTA (fialové víčko, Becton-Dickinson #368457 nebo #362799 nebo ekvivalentní).

Pro výtěry ve fyziologickém roztoku jsou doporučeny zkumavky .

Pro vzorky celé krve jsou doporučeny zkumavky EDTA (fialové víčko, Becton-Dickinson #368457 nebo ekvivalentní).

Pro vzorky CSF jsou doporučeny plastové sterilní zkumavky (polypropylen).

**Nepoužívejte heparinové zkumavky.** High Pure Viral Nucleic Acid Kit nebyl posuzován pro vzorky odebrané ve zkumavkách s heparinem.

---

### Odběr a skladování plasmy

Do 24 hodin po odběru krve musí být zkumavka s odebranou krví odstředěna při 1500 x g po dobu 20 min při pokojové teplotě, aby bylo získáno plasma. Převed'te plasmu do sterilní polypropylenové zkumavky a skladujte při +2 až +8 °C nejdéle 24 hodin. Pokud nebude vzorek analyzován během 24 hodin, skladujte jej zmražený při teplotě -20 až -80 °C. Doporučuje se, aby v takovém případě byl vzorek skladován v alikvotních množstvích ~250 µl ve sterilní zkumavece 1,5 ml se šroubovacím uzávěrem (např. Sarstedt 72.692.105).

---

### Přeprava vzorku

Všechny vzorky musí být přepravovány v souladu s platnými státními předpisy. Přeprava celé krve, plasmy nebo CSF musí vyhovovat všem státním předpisům pro přepravu etiologických látek. Celá krev musí být přepravována při teplotě +2 až +25 °C a zpracována do 24 hodin po odběru. Vzorky CSF a plasmy musí být přepravovány při teplotě +2 až +8 °C, pokud budou analyzovány během 24 hodin. V jiném případě je třeba CSF a plasmu přepravovat zmražené při teplotě -20 °C nebo méně.

---

### 3 Požadovaný materiál

#### Obsah soupravy

Tato tabulka specifikuje obsah soupravy High Pure Viral Nucleic Acid Kit.

Lahvička/víčko	Štítek	Obsah
1 zelené	Binding Buffer	2 x 25 ml
2	Poly(A)	Lyofilizát, 2 mg
3 růžové	Proteinase K	Lyofilizát, 100 mg
4a černé	Inhibitor Removal Buffer	33 ml
4 modré	Wash Buffer	2 x 10 ml
5 bezbarvé	Elution Buffer	30 ml
6	High Pure Filter Tubes	Sáček s 50 zkumavkami
7	Collection Tubes	Osm sáčků s 50 zkumavkami

**Poznámka:** Podrobné informace naleznete v hlavním příbalovém letáku pro High Pure Viral Nucleic Acid Kit.

**Reference:** Příbalový leták dodávaný se soupravou High Pure Viral Nucleic Acid Kit.

#### Požadované materiály, které nejsou součástí dodávky

Zapotřebí je ethanol, který však není součástí dodávky

**Reference:** Příbalový leták dodávaný se soupravou High Pure Viral Nucleic Acid Kit.

LightCycler® DNA IC a DNA NTC jsou součástí balení LightCycler® CMV Quant Kit, LightCycler® HSV 1/2 Qual Kit a LightCycler® VZV Qual Kit.

**Reference:** Uživatelský návod každé soupravy LightCycler®.

---

# 4 Upozornění a bezpečnostní zásady

---

## Upozornění a bezpečnostní zásady

Upozornění a bezpečnostní zásady pro High Pure Viral Nucleic Acid Kit naleznete v hlavním příbalovém letáku této soupravy.

**Reference:** Příbalový leták dodávaný se soupravou High Pure Viral Nucleic Acid Kit.

---

## 5 Pracovní postup

### Než začnete s přípravou vzorku

Tato tabulka popisuje činnosti, které je třeba provést před zahájením přípravy vzorku.

**Table 5.1** Před zahájením přípravy vzorku

Krok	Činnost
1	Pokud je vzorek zmražený, rozmrazte jej a krátce promíchejte na vortexu. Vzorek rychle odstředte.
2	Označte 1.5ml zkumavku se šroubovacím uzávěrem pro každý vzorek a jednu 1.5ml zkumavku se šroubovacím uzávěrem pro DNA NTC.
3	Zapněte vyhřívací blok a nastavte teplotu na +70 °C.

### Příprava pracovních roztoků

Tato tabulka popisuje přípravu pracovních roztoků pro přípravu vzorku.

**Table 5.2** Jak připravit pracovní roztoky

Krok	Činnost
1	Rozpusťte <b>Proteinase K</b> v 5 ml <b>Elution Buffer</b> . <b>Poznámka:</b> Používejte filtrační špičky
2	Rozpusťte <b>poly (A+) carrier RNA</b> v 0.5 ml <b>Elution Buffer</b> . <b>Poznámka:</b> Používejte filtrační špičky
3	Přidejte 20 ml 95% <b>ethanolu</b> do každé lahvičky obsahující <b>Inhibitor Removal Buffer</b>
4	Přidejte 40 ml 95% <b>ethanolu</b> do každé lahvičky obsahující <b>Wash Buffer</b>
5	V samostatné zkumavce smíchejte <b>Lysis Buffer</b> v množství dostatečném pro počet připravovaných vzorků. Recept pro <b>Lysis Buffer</b> na jeden vzorek: 4 µl <b>poly (A+) carrier RNA</b> 192.5 µl <b>Binding Buffer</b> 3.5 µl <b>LightCycler® DNA IC</b> <b>Poznámka:</b> Před přípravou každého roztoku vyměňte filtrační špičku. <b>Poznámka:</b> Nezapomeňte připravit <b>Lysis Buffer</b> pro DNA NTC.
6	Vypočítejte potřebný objem roztoku <b>Elution Buffer</b> (35 µl na vzorek) a převedte celý objem do 1.5ml zkumavky se šroubovacím uzávěrem. <b>Poznámka:</b> Používejte filtrační špičky <b>Poznámka:</b> Při přípravě vzorků celé krve musí být propírací roztok předehřátý na 70 °C. <b>Poznámka:</b> Nezapomeňte připravit <b>Elution Buffer</b> pro DNA NTC.

**Reference:** Podrobné informace o podmínkách skladování naleznete v příbalovém letáku pro High Pure Viral Nucleic Acid Kit.

### Pracovní postup přípravy vzorku

Tato tabulka vysvětluje pracovní postup při přípravě vzorku, který je třeba použít se soupravami LightCycler® CMV Quant Kit, LightCycler® HSV 1/2 Qual Kit nebo LightCycler® VZV Qual Kit.

**Table 5.3** Pracovní postup přípravy vzorku

Krok	Činnost
1	Na každý klinický vzorek a NTC smíchejte: 200 µl plasmy, celé krve, CSF nebo výtěru <i>nebo</i> 200 µl <b>DNA NTC</b> a 200 µl <b>Lysis Buffer</b> <b>Poznámka:</b> Používejte 1.5ml zkumavku se šroubovacím uzávěrem a filtrační špičky.
2	Přidejte 50 µl <b>Proteinase K</b> do každé zkumavky. <b>Poznámka:</b> Používejte filtrační špičky
3	Každou zkumavku zamíchejte na vortexu. Nechte inkubovat 10 min při +70 °C. Otáčejte 5 sekund.
4	Přidejte 100 µl <b>Binding Buffer</b> do každé zkumavky a důkladně smíchejte na vortexu.
5	<i>Na každý vzorek:</i> Dejte <b>High Pure column</b> do 2ml zkumavky a napipetujte celý vzorek do <b>High Pure column</b> .
6	Odstředte při 11 000 x RCF po dobu 1 min a potom 2ml zkumavku vyhodte.
7	Dejte <b>High Pure columns</b> do nových 2ml zkumavek. Přidejte 500 µl <b>Inhibitor Removal Buffer</b> do každého sloupce.
8	Odstředte při 11 000 x RCF po dobu 1 min a potom 2ml zkumavku vyhodte.
9	Dejte <b>High Pure columns</b> do nových 2ml zkumavek. Přidejte 450 µl <b>Wash Buffer</b> do každého sloupce.
10	Odstředte při 11 000 x RCF po dobu 1 min a potom 2ml zkumavku vyhodte.
11	Jednou zopakujte krok 9 a 10.
12	Dejte <b>High Pure columns</b> do nových 2ml zkumavek. Vysušte membrány ve sloupcích odstředěním při 11 000 x RCF po dobu 2 min a potom 2ml zkumavku vyhodte.
13	Dejte sloupce do 1.5ml zkumavek. Přidejte 35 µl <b>Elution Buffer</b> na membránu. <b>Poznámka:</b> Pro přípravu vzorků celé krve použijte propírací roztok předeřátý na (70 °C).
14	Odstředujte při 11 000 x RCF po 1 min. Zkumavku s eluentem uschovejte.

### Uložte vzorky

Eluenty mohou být přímo použity pro PCR za využití LightCycler® CMV Quant Kit, LightCycler® HSV 1/2 Qual Kit nebo LightCycler® VZV Qual Kit nebo mohou být uchovány při teplotě +2 až +8 °C po dobu tří dnů nebo -15 až -25 °C po dobu tří týdnů před analýzou.

**Reference:** Uživatelský návod pro každou soupravu LightCycler® PCR.

### **Poznámka pro kupujícího**

Zakoupením tohoto produktu získává kupující právo použít jej pro zesílení sekvence nukleové kyseliny a pro detekci sekvence nukleové kyseliny pro in vitro diagnostiku u člověka. Žádné patentové nebo licenční právo jakéhokoli typu jiné než specifikované právo použití není zakoupením udělováno.

### **Obchodní známky**

ROCHE, LIGHTCYCLER a HIGH PURE jsou ochranné známky společnosti Roche.

### **Distribuce:**

Roche Diagnostics GmbH  
Roche Molecular Diagnostics  
68298 Mannheim  
NĚMECKO

### **Příprava protokolu:**

Special appendix for High Pure Viral Nucleic Acid Kit byla připravena společností Sangtec Molecular Diagnostics AB.

### **Kontaktní informace**

Kontaktujte prosím své místní zastoupení Roche  
[www.roche-diagnostics.com](http://www.roche-diagnostics.com)