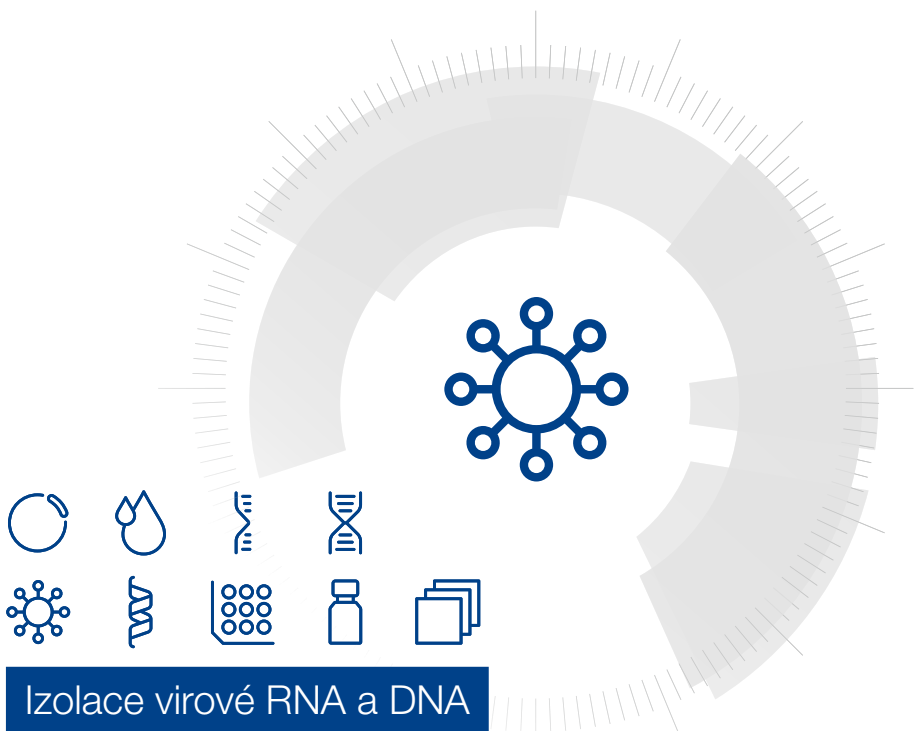


MACHEREY-NAGEL

Uživatelská příručka



Izolace virové RNA a DNA

■ NucleoMag® Dx Pathogen



IVD

Diagnostický zdravotnický prostředek *in vitro*

REF

744215.4

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
Valenciennner Str. 11 · 52355 Düren · Německo

384 dávek



Červenec 2025 / Rev. 04

Contact MN

Germany and international

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
Valenciener Str. 11 · 52355 Düren · Germany
Tel.: +49 24 21 969-0
Toll-free: 0800 26 16 000 (Germany only)
E-mail: info@mn-net.com

Technical Support Bioanalysis

Tel.: +49 24 21 969-333
E-mail: support@mn-net.com

USA

MACHEREY-NAGEL Inc.
924 Marcon Blvd. · Suite 102 · Allentown PA, 18109 · USA
Toll-free: 888 321 6224 (MACH)
E-mail: sales-us@mn-net.com

France

MACHEREY-NAGEL SAS
1, rue Gutenberg – BP135 · 67720 Hoerdt Cedex · France
Tel.: +33 388 68 22 68
E-mail: sales-fr@mn-net.com

MACHEREY-NAGEL SAS (Société par Actions Simplifiée) au capital de 186600 €
Siret 379 859 531 00020 · RCS Strasbourg B379859531 · N° intracommunautaire FR04 379 859 531

Switzerland


MACHEREY-NAGEL AG
Hirsackerstr. 7 · 4702 Oensingen · Switzerland
Tel.: +41 62 388 55 00
E-mail: sales-ch@mn-net.com

Obsah

1	Součásti	4
1.1	Obsah sady	4
1.2	Reagencie, spotřební látky a vybavení, které si musí uživatel zajistit	5
1.3	O této uživatelské příručce	6
2	Popis produktu	7
2.1	Zamýšlený účel	7
2.2	Omezení použití produktu	7
2.3	Kontrola kvality	7
2.4	Základní princip	7
2.5	Specifikace sady	8
2.6	Kvalita a příprava vzorků	8
2.7	Hodnocení výkonnosti na automatických systémech	9
2.8	Postupy eluce	12
2.9	Analytická a klinická funkce	13
3	Podmínky skladování a příprava pracovních roztoků	15
4	Bezpečnostní pokyny	17
4.1	Likvidace	17
5	Protokol k izolaci virové RNA ze stěrů z dýchacích cest a slin a virové RNA a virové DNA ze vzorků lidské stolice	18
5.1	Příprava materiálu vzorků	18
5.2	Přehled protokolu	19
5.3	Podrobný protokol	20
6	Dodatek	23
6.1	Řešení problémů	23
6.2	Povinné hlášení	24
6.3	Přehled literatury	24
6.4	Informace pro objednávky	25
6.5	Vysvětlivky symbolů	26
6.6	Omezení použitelnosti produktu / záruka	26

1 Součásti

1.1 Obsah sady

NucleoMag® Dx Pathogen		
REFERENCE	Symbol	4 × 96 dávek 744215.4
NucleoMag® B-Beads	B-Beads	10 mL
Lysis Buffer NPL1	BUF NPL1	100 mL
Binding Buffer NPB2	BUF NPB2	3 × 110 mL
Wash Buffer NPW3	BUF NPW3	300 mL
Wash Buffer NPW4	BUF NPW4	300 mL
Elution Buffer NPE5	BUF NPE5	125 mL
Carrier RNA*	Carrier RNA	4 × 400 µg
Carrier RNA Buffer	Carrier RNA Buffer	4 × 500 µL
Proteinase K (lyophilized)*	Proteinase K	3 × 75 mg
Proteinase Buffer PB	BUF PB	15 mL
User manual		1

* Přípravu pracovních roztoků a podmínky jejich skladování uvádí část 3.

1.2 Reagencie, spotřební látky a vybavení, které si musí uživatel zajistit

Potřebné vybavení se může lišit v závislosti na způsobu zpracování (např. manuálním nebo automatizovaném) a nastavení nebo konfiguraci přístroje. Informujte se u svého místního výrobce vaší platformy, jaké konkrétní spotřební látky u této platformy použít. Také si prostudujte část 2.7, která obsahuje další podrobnosti o automatizaci sady NucleoMag® Dx Pathogen.

Produkt	REFERENCE	Velikost balení
Magnet pro magnetickou separaci izolačních částic, NucleoMag® SEP	744900	1
Separáčnická destička pro magnetickou separaci izolačních částic, Square-well Block (blok s 96 čtvercovými sloty po 2,1 mL)	740481 740481.24	4 24
Elučnická destička pro sběr purifikovaných nukleových kyselin, elučnická destička se dnem tvaru U (mikrotitrační destička s 96 sloty o velikosti 0,3 mL, sloty se dnem tvaru U o velikosti 300 µL)	740486.24	24

Reagencie:

- 80% etanol (objemová procenta) (absolutní nebo nedenaturovaný etanol)

Spotřební látky:

- Jednorázové pipetovací hroty (pro prevenci zkřížené kontaminace jsou doporučeny pipetovací hroty s aerosolovou bariérou a bez obsahu RNáz)

Vybavení pro manuální přípravu vzorků

- Manuální pipetory, nejlépe elektronické 8kanálové pipety
- Vhodné protřepávací zařízení (viz část 2.7)
- Osobní ochranné prostředky (např. laboratorní plášť, rukavice, brýle)

1.3 O této uživatelské příručce

Je důrazně doporučeno si v této uživatelské příručce přečíst podrobnou protokolární část. Protokol do kapsy slouží pouze jako doplněk pro rychlou nápovědu při provádění postupu purifikace.

Chcete-li získat informace o změnách v aktuální uživatelské příručce oproti předchozím verzím, kontaktujte technický servis.

Kontaktní údaje

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG

Valenciennener Str. 11

52355 Düren

Německo

Tel.: +49 24 21 969-0

Nezpoplatněný: 0800 26 16 000 (platí pouze pro Německo)

E-mail: info@mn-net.com

Technická podpora pro bioanalýzu

Tel.: +49 24 21 969-333

E-mail: support@mn-net.com

Benutzerhandbücher in weiteren Sprachen sind im Downloads-Bereich auf der Produktseite verfügbar.

Les manuels d'utilisation dans d'autres langues sont disponibles dans la section Téléchargements de la page du produit.

Los manuales de usuario en otros idiomas están disponibles en la sección de descargas de la página del producto.

Podręczniki użytkownika w innych językach są dostępne w obszarze pobierania na stronie produktu.

Uživatelské příručky v jiných jazycích jsou k dispozici v sekci Ke stažení na stránce produktu.

Más nyelvű felhasználói kézikönyvek a termékoldalán található letöltési területen érhetők el.

I manuali d'uso in altre lingue sono disponibili nell'area download della pagina del prodotto.



2 Popis produktu

2.1 Zamýšlený účel

NucleoMag® Dx Pathogen je sada k izolaci virové RNA z lidských stěrů z dýchacích cest a slin a k izolaci virové RNA a virové DNA ze vzorků neupravené lidské stolice k následné diagnostické analýze *in vitro*.

Produkt poskytuje purifikovanou virovou RNA a virovou DNA určenou k následným analýzám, jako je qRT-PCR nebo sekvenování. Tento produkt používají profesionálové v diagnostických laboratořích. Sada je také vhodná k automatickému použití na automatických laboratorních platformách. Sada NucleoMag® Dx Pathogen není vhodná pro samotestování nebo testování přímo u pacienta. Uživatel této sady musí mít zkušenosti s molekulárně biologickými technikami včetně práce se stěry, slinami, stolici a jinými potenciálně infekčními lidskými vzorky. Je doporučeno používat vhodné kontroly, jako např. vnitřní kontroly, extrakční kontroly a pozitivní/negativní kontroly.

2.2 Omezení použití produktu

Sada NucleoMag® Dx Pathogen je vhodná pro lidské stěry z dýchacích cest, sliny a vzorky neupravené lidské stolice. Sada NucleoMag® Dx Pathogen nebyla validována pro materiály z jiných vzorků. Nazofaryngeální (NP) stěry lze ve zdravotnictví použít k testování asymptomatických osob. Při testování symptomatických pacientů mohou být vyžadovány jiné systémy pro sběr vzorků. Jsou doporučeny syntetické vláknité stěrovky s plastovými tyčinkami. Stěrovky s obsahem kalcium alginátu, stěrovky s dřevěnými tyčinkami ani stabilizované vzorky lidské stolice se nedoporučují, protože obsahují látky, které mohou inhibovat testování PCR.

Účinnost produktu byla demonstrována v diagnostických pracovních postupech pro SARS-CoV-2 z čerstvých a neošetřených lidských stěrů z dýchacích cest a slin, jakož i v rutinních diagnostických pracovních postupech pro diagnostiku gastrointestinálních onemocnění. Přesto ale nebyly stanoveny funkční charakteristiky pro veškeré virové druhy v příslušných klinických vzorcích ani pro všechny stabilizační reagenty vzorků. Jejich validaci proto musí provést uživatel. Stejně tak musí být validována uživatelem i extrakce virových nukleových kyselin pomocí sady NucleoMag® Dx Pathogen na různých automatických platformách.

Dodržujte platná pravidla pro sběr klinických vzorků, manipulaci s nimi a jejich skladování a ostatní preanalytické požadavky.

2.3 Kontrola kvality

V souladu se systémem pro řízení kvality společnosti MACHEREY-NAGEL je každá šarže sady NucleoMag® Dx Pathogen testována proti předem definovaným specifikacím, aby byla zajištěna stálá kvalita těchto produktů.

2.4 Základní princip

Sada NucleoMag® Dx Pathogen je určena k izolaci virové RNA z lidských stěrů z dýchacích cest a slin a k izolaci virové RNA a virové DNA ze vzorků neupravené lidské stolice. Sada obsahuje reagenty a magnetické izolační částice pro izolaci 384 vzorků. Postup je založen na reverzibilní adsorpci nukleových kyselin na paramagnetické částice při vhodných pufracích podmínkách. Lyza vzorku probíhá pomocí inkubace s lytickým pufrém Lysis Buffer NPL1 s obsahem chaotropních iontů za podpory rozkladu proteinázou Proteinase K. Za účelem navázání nukleových kyselin na paramagnetické částice se do lyzátu přidávají

vázací pufr Binding Buffer NPB2 a částice NucleoMag® B-Beads. Po magnetické separaci se paramagnetické částice promyjí pomocí promývacích pufřů Wash Buffer NPW3 a NPW4 a 80% etanolu za účelem odstranění kontaminantů a solí. Zbylý etanol z předchozího kroku promytí se odstraní sušením na vzduchu. Závěrem se vysoce purifikované virové nukleové kyseliny eluují elučním pufrem Elution Buffer NPE5 s nízkým obsahem solí nebo vodou. Purifikované virové nukleové kyseliny lze přímo použít pro následné aplikace. Sadu NucleoMag® Dx Pathogen lze použít jak manuálně, tak automaticky na standardních přístrojích pro práci s kapalinami nebo automatických magnetických separátorech.

Nosič Carrier RNA

Nosič Carrier RNA zlepšuje výkonnost této sady. Nosič Carrier RNA slouží k podpoře vázání virových nukleových kyselin na magnetické částice a snižuje riziko degradace virové RNA. Upozorňujeme, že vymyté vzorky po použití sady NucleoMag® Dx Pathogen obsahují jak virové nukleové kyseliny, tak nosiče Carrier RNA, přičemž množství nosičů Carrier RNA může překračovat množství virových nukleových kyselin. Z toho důvodu nelze kvantifikovat nukleové kyseliny izolované pomocí této sady s použitím nosiče Carrier RNA pomocí fotometrických nebo fluorometrických metod. Jsou proto doporučeny jiné metody kvantifikace, jako např. systémy pro specifické kvantitativní PCR nebo RT-PCR. Nosiče Carrier RNA mohou ve vzácných případech také inhibovat reakce PCR. Množství přidaného nosiče Carrier RNA by proto mělo být pečlivě přizpůsobeno podle konkrétního systému pro PCR, který používáte.

2.5 Specifikace sady

Tabulka 1: Přehled specifikací sady

Parametr	NucleoMag® Dx Pathogen
Technologie	Technologie izolace pomocí magnetických částic
Materiál vzorků	Stěry z dýchacích cest a sliny (lidské), nestabilizovaná/neupravená stolice (lidská)
Objem vzorku	200 µL
Eluční objem	50–100 µL
Čas přípravy	Přibl. 40–120 min / 96 vzorků *
Zpracování	Manuální nebo automatické

2.6 Kvalita a příprava vzorků

Lze použít nazofaryngeální (NP) stěry i jiné systémy pro sběr vzorků. Jsou doporučeny syntetické vláknité stěrky s plastovými tyčinkami. Stěrky s obsahem kalcium alginátu, stěrky s dřevěnými tyčinkami ani stabilizované vzorky lidské stolice se nedoporučují, protože obsahují látky, které mohou inhibovat testování PCR. Vzorky stolice mohou být čerstvé, skladované při teplotě 2–8 °C nebo zmrazené (–20 °C).

Dodržujte platná pravidla pro sběr klinických vzorků, manipulaci s nimi a jejich skladování a ostatní preanalytické požadavky.

* V závislosti na konfiguraci a nastavení přístroje.

2.7 Hodnocení výkonnosti na automatických systémech

Sadu NucleoMag[®] Dx Pathogen lze použít automaticky na různých platformách pro práci s kapalinami nebo automatických magnetických separátorech. I přesto ale musí být extrakce virové RNA nebo virové DNA pomocí sady NucleoMag[®] Dx Pathogen na různých automatických platformách validována uživatelem společně s následnou diagnostickou analýzou *in vitro* v závislosti na cílovém patogenu a společně s vhodnými kontrolami pro následné aplikace vzorků (např. vnitřní kontroly, extrakční kontroly, pozitivní/negativní kontroly).

Při implementaci sady NucleoMag[®] Dx Pathogen na automatických platformách je vysoce doporučeno používat extrakční kontroly, pozitivní/negativní kontroly a vnitřní kontroly i provádět analýzy zkřížené kontaminace.

Následující kapitoly obsahují pokyny pro automatické použití sady NucleoMag[®] Dx Pathogen a pro hodnocení výkonnosti na automatických systémech.

2.7.1 Obecné pokyny pro zacházení s magnetickými částicemi

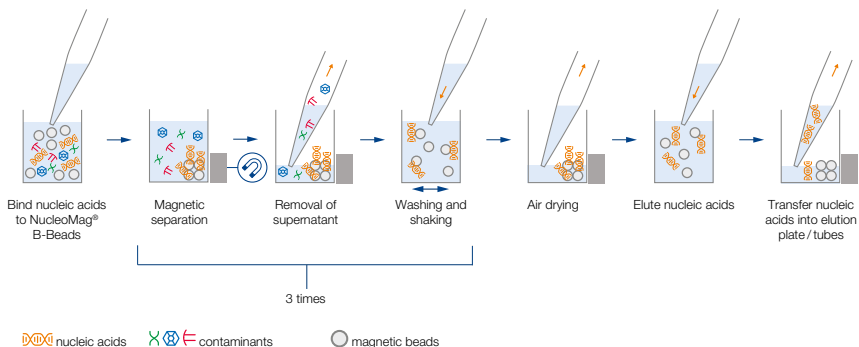
Distribuce částic

Za účelem zajištění konzistence mezi jednotlivými sloty separační destičky je zásadní, aby do nich byly magnetické částice homogenně distribuovány. Před aplikací částic do slotů se proto ujistěte, že jsou částice kompletně resuspendovány. Skladovací lahvičku dobře protřepejte nebo ji krátce vortexujte. Při automatickém použití je doporučeno před aspirováním částic ze zásobníku/zkumavky zařadit krok promíchání, aby částice zůstaly resuspendované.

2.7.2 Systémy pro práci s kapalinami

Sadu NucleoMag[®] Dx Pathogen lze použít automaticky na různých přístrojích pro práci s kapalinami pomocí magnetického separátoru NucleoMag[®] SEP (MN REF: 744900) společně s Square-well Block (MN REF: 740481) a vhodným protřepávacím zařízením, které zajistí optimální resuspenzi během vázání, promývání a eluce. K plně automatickému použití na pracovních stanicích pro práci s kapalinami je také zapotřebí uchopovací zařízení. Uchopovací zařízení přenáší destičku do magnetického separátoru pro separaci částic a poté do protřepávacího modulu pro resuspenzi částic. Kompletní resuspenze magnetických částic během extrakce je zásadní pro spolehlivou funkci a musí být zkontrolována během validace na příslušném systému pro práci s kapalinami. Alternativně lze částice resuspendovat v pufru pomocí opakovaného přepipetování.

Následující schéma zobrazuje základní princip extrakce pomocí statického magnetického separátoru, počínaje krokem navázání s přidáním magnetických částic a vázacího pufru Binding Buffer.



Obrázek 1 Základní princip extrakce pomocí magnetických částic na statickém magnetickém separátoru

2.7.3 Úprava nastavení protřepávacího zařízení

Dostatečná resuspenze částic NucleoMag® B-Beads je zásadní pro spolehlivou extrakci a závisí na specifikacích použitého protřepávacího zařízení (např. rychlost a oběžná dráha). Pokud při krocích vázání, promývání a eluce používáte protřepávací zařízení pro destičky, je zapotřebí pro Square-well Block i pro konkrétní protřepávací zařízení opatrně nastavit rychlost, aby nedošlo ke zkřížené kontaminaci mezi sloty. Postupujte následujícím způsobem:

Úprava rychlosti protřepávacího zařízení pro kroky vázání a promývání:

Naplňte sloty separační destičky 1030 μL (celkový objem pro krok vázání) nebo 600 μL (objem pro kroky promývání) obarvené vody. Umístěte destičku do protřepávacího zařízení a spusťte protřepávání střední rychlostí po dobu 30 s. Poté vypněte zařízení a zkontrolujte, jestli jsou na povrchu destičky drobné kapky obarvené vody.

Poté zvýšte nastavenou rychlost, protřepávejte dalších 30 s a opět zkontrolujte přítomnost kapek na povrchu destičky.

Pokračujte ve zvyšování rychlosti, dokud na povrchu separační destičky nevidíte kapky. Snižte nastavení rychlosti, opět zkontrolujte a toto nastavení použijte pro krok promývání.

Úprava rychlosti protřepávacího zařízení pro krok eluce:

Naplňte sloty destičky pro sběr 100 μL obarvené vody a pokračujte stejným postupem, jak je popsáno výše.

Následující tabulka obsahuje přehled již otestovaných nastavení z různých platform a může sloužit jako první vodítko při nastavování automatických procesů. Je vysoce doporučeno během validace používat vnitřní kontroly, extrakce i pozitivní a negativní kontroly. Je doporučeno rozvolnit granule magnetických částic v protřepávacím zařízení po dobu 30 s, než bude přidán pufr, což usnadní resuspenzi těchto částic. Podle účinnosti resuspenze může být zapotřebí provést promíchání pomocí pipety.

Systém pro práci s kapalinami / protřepávací zařízení	Rychlost	Čas
Thermomixer comfort (Eppendorf)	Lýza: 600 ot/min	15 min
	Vázání 1000 ot/min	5 min
	Promývání: 1000 ot/min	2 min
	Eluce 1000 ot/min	5 min
epMotion® 5075t TMX (Eppendorf)	Lýza: 1200 ot/min	15 min
	Vázání: 1000 ot/min	5 min
	Promývání: 1200 ot/min	2 min
	Eluce 1200 ot/min	5 min
Te-Shake™ (Tecan)	Lýza 1400 ot/min	15 min
	Vázání: 1400 ot/min*	5 min
	Promývání: 1400 ot/min**	3 min
	Eluce: 1000 ot/min	5 min
Hamilton Heater Shaker HHS (Hamilton)	Lýza: 1200 ot/min	15 min
	Vázání: 1200 ot/min	5 min
	Promývání: 1200 ot/min	2 min
	Eluce: 1200 ot/min	5 min

Při implementaci a úpravách sady NucleoMag® Dx Pathogen na automatických platformách je vysoce doporučeno provést iniciační analýzu zkřížené kontaminace (např. šachovnicové rozmístění pozitivních a negativních vzorků).

Konkrétní kroky protokolu se mohou lišit v závislosti na dostupných spotřebních látkách, hardwaru, platformách a nastavení přístrojů. Automatický proces nebo skript pro extrakci virových nukleových kyselin pomocí sady NucleoMag® Dx Pathogen na různých automatických platformách musí být uživatelem validován společně s konkrétní následnou analýzou.

2.7.4 Automatické systémy pro magnetickou separaci

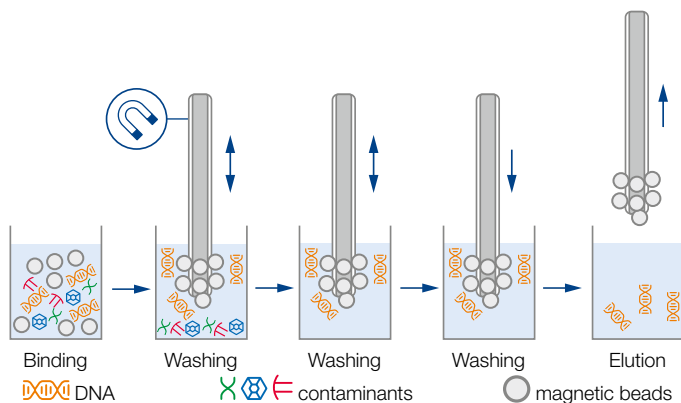
Sadu NucleoMag® Dx Pathogen lze použít automaticky na různých automatických platformách pro magnetickou separaci pomocí konkrétních spotřebních látek, které daný přístroj potřebuje. Magnetické částice jsou obvykle resuspendovány pomocí pohybu plastového krytu (typu tip-comb) kryjícího magnetické tyče. Po navázání, promytí a eluci jsou částice opět sebrány pomocí magnetických tyčí. Ve většině případů je zapotřebí před zahájením protokolu purifikace samostatně přidat pufr a jiné součásti. Nepřekračujte maximální plnicí objem na danou reakční nádobu, který je určen výrobcem. Všechna nastavení musí být validována uživatelem společně s jejich konkrétními konfiguracemi platform a následnou analýzou. Je vysoce doporučeno

* Včetně promíchání pomocí přepipetování.

** Střídavé směry.

během validace nastavení platformy používat vnitřní kontroly, extrakce i pozitivní a negativní kontroly.

Následující schéma zobrazuje základní princip extrakce pomocí automatického systému pro magnetickou separaci.



Obrázek 2 Základní princip extrakce založené na magnetických částicích pomocí automatických systémů pro separaci.

2.8 Postupy eluce

Purifikovanou virovou RNA nebo virovou DNA lze přímo eluují pomocí dodaného elučního pufru. Eluci je možné provést v objemu 50–100 µL. Je zásadní, aby byly částice NucleoMag® B-Beads při eluci kompletně zakryty elučním pufrem Elution Buffer. Aby byla eluce účinná, musí být granule magnetických částic v elučním pufru Elution Buffer kompletně resuspendovány.

Skladování nukleových kyselin

Doporučení:

Krátkodobé skladování (do 24 h): 2–8 °C

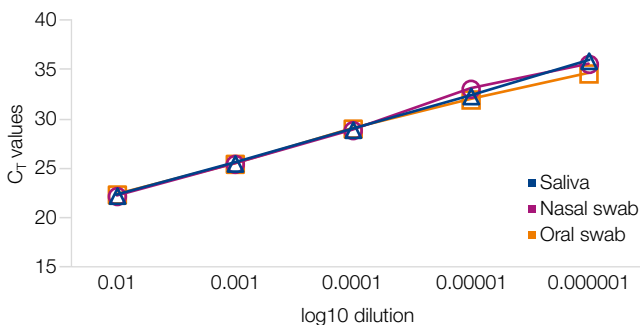
Dlouhodobé skladování (přes 24 h): –20 °C

2.9 Analytická a klinická funkce

Analytická výkonnost sady NucleoMag® Dx Pathogen byla hodnocena pomocí následné reakce RT-qPCR s izolovanou MS2-RNA. Opakovatelnost v rámci jednoho běhu byla vypočítána na základě paralelní izolace 96 vzorků. S $n = 96$ byla stanovena střední hodnota Ct $27,92 \pm 0,118$ a $CV < 1 \%$. Opakovatelnost mezi jednotlivými běhy byla vypočítána ze 3 nezávislých běhů izolace MS2-RNA. Pro 4 vstupy MS2-RNA byla standardní odchylka 3 jednotlivých běhů méně než 0,1 s hodnotou CV 0,26 %. Pro opakovatelnost mezi jednotlivými šaržemi byly společně testovány 3 šarže sad NucleoMag® Dx Pathogen. Pro 3 vstupy MS2-RNA byla standardní odchylka 3 jednotlivých sad méně než 0,61 s hodnotou CV 1,49 %.

Pro hodnocení opakovatelnosti mezi jednotlivými uživateli byly izolovány čtyři vstupy MS2-RNA ve dvou nezávislých bžích provedených dvěma odlišnými uživateli. Průměrná hodnota $\Delta\Delta Ct$ pro výsledné 4 koncentrace mezi jednotlivými uživateli byla vypočítána jako nižší než 0,1.

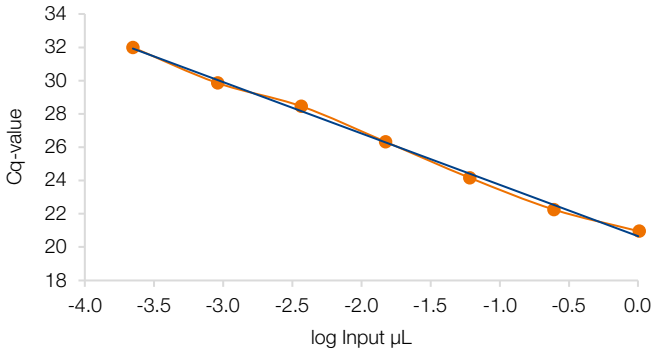
Ve studii se vzorky pozitivními na SARS-CoV-2 byla vytvořena diluční řada log₁₀ z negativního poolovaného materiálu ze stěrů z dutiny ústní, z dutiny nosní a ze slin. Extrahovaná RNA byla testována ve dvou různých systémech pro real-time RT-PCR, ve dvou různých směsích master mix společně se dvěma různými systémy interní kontroly (beta-actin-DNA-mix 2 a IC2-RNA/EGFP-Mix 1).



Obrázek 3 Diluční řada log₁₀ pro SARS-CoV-2 ze slin a stěrů z dutiny nosní a ústní. Sada NucleoMag® Dx Pathogen na systému KingFisher™ Flex (Thermo Fisher Scientific), AgPath-ID™ One-Step RT-PCR (Thermo Fisher Scientific), analýza nCoV-IP4 (Institut Pasteur, Paris). Data poskytnuta s laskavostí Dr. B. Hoffmanna, Friedrich-Löffler Institute, Německo.

Pro hodnocení klinické výkonnosti byla RNA SARS-CoV2 izolována ze stěrů a amplifikována pomocí analýz SARS-CoV2 RT-qPCR. Byly vyhodnoceny pozitivní a negativní kontroly. Ve 27 bžích po 94 vzorcích bylo všech 27 pozitivních kontrol i 27 negativních kontrol naměřeno podle očekávání. Diagnostická senzitivita a specifita byla 100 %.

Výkonnost sady NucleoMag® Dx Pathogen při zpracování vzorků stolice je demonstrována na příkladu viru katarální horečky ovcí (virus dsRNA).



Obrázek 4 Analýza qRT-PCR řady ředění 1:4 v sedmi krocích ředění BTV (dsRNA) extrahovaného z lidských vzorků stolice. Objem vstupního vzorku je zobrazen na logaritmické škále. Průměrné hodnoty Cq diluční řady jsou zobrazeny oranžovou tečkovanou čarou. Křivka lineární regrese (modrá plná čára) vykazuje sklon $-3,12$ a hodnotu $R^2 = 0,99$.

Diagnostická senzitivita a specifita ve vzorcích stolice jsou demonstrovány na příkladu noroviru (virus ssRNA). Virová RNA byla izolována ze zbytkových vzorků stolice pocházejících z klinické praxe s již známým virovým statutem. Eluáty byly následně podrobeny q(RT)-PCR analýze s využitím sady RIDA Gene Viral Stool Panel I (R-Biopharm). Ve studii s 93 skutečně pozitivními vzorky dosáhla diagnostická senzitivita 94 %. Ve druhé studii s 96 skutečně negativními vzorky dosáhla diagnostická specifita 99 %.

3 Podmínky skladování a příprava pracovních roztoků

Pozor: *NPL1, NPB2, NPW3, NPW4 a pufr Carrier RNA obsahují chaotropní soli (např. guanidin hydrochlorid nebo perchlorát sodný), které mohou při kombinaci s bělidlem (hypochlorid sodný) vytvářet vysoce reaktivní sloučeniny! NEPŘIDÁVEJTE do odpadu po přípravě vzorků bělidlo nebo kyselé látky. Používejte vhodný ochranný oděv, rukavice a bezpečnostní brýle!*

- Po obdržení sady zkontrolujte, jestli některá ze součástí není poškozená. Pokud je některá součást sady, jako např. lahvičky s pufrů, zkumavky se šroubovacími uzávěry nebo skleněné lahvičky, poškozená, obraťte se na technickou podporu a zákaznický servis společnosti MACHEREY-NAGEL či na svého místního distributora.
- Poškozené součásti sady nepoužívejte.
- Používejte vybavení bez obsahu RNáz.
- Po dodání musí být všechny součásti sady **NucleoMag® Dx Pathogen** skladovány při pokojové teplotě (18–25 °C). Nepoužívejte produkty po uplynutí data spotřeby.
- Lyofilizovanou proteinázu Proteinase K lze skladovat při pokojové teplotě (18–25 °C) až do uplynutí data spotřeby, aniž by se snížila její účinnost. Rekonstituovanou proteinázu Proteinase K lze skladovat při teplotě –20 °C po dobu až 6 měsíců, ale současně jen do uplynutí jejího data spotřeby.
- Lyofilizovaný nosič Carrier RNA lze skladovat při pokojové teplotě (18–25 °C) až do uplynutí data spotřeby, aniž by se snížila jeho účinnost. Rekonstituovaný nosič Carrier RNA lze skladovat při teplotě –20 °C po dobu až 6 měsíců, ale současně jen do uplynutí jeho data spotřeby.
- Všechny pufrů jsou dodávány ve stavu připraveném k použití.

Před spuštěním jakéhokoli protokolu se sadou **NucleoMag® Dx Pathogen** si připravte následující:

- **Proteináza Proteinase K:** Před prvním použitím sady přidejte 3,35 mL proteinázového pufru Proteinase Buffer PB do každé lahvičky s **lyofilizovanou proteinázou Proteinase K a tuto proteinázu K rozpustíte**. Roztok rozpuštěné proteinázy Proteinase K lze skladovat při teplotě –20 °C po dobu až 6 měsíců, ale současně jen do uplynutí data použitelnosti.
- **Nosič Carrier RNA:** Před prvním použitím sady přidejte 500 µL pufru Carrier RNA do každé lahvičky s **lyofilizovaným nosičem Carrier RNA**. Rozpusťte nosič Carrier RNA a skladujte výsledný roztok nosiče Carrier RNA v podobě alikvotů při teplotě –20 °C po dobu až 6 měsíců, ale současně jen do uplynutí data spotřeby.
Poznámka: Kvůli postupu výroby a nízkému množství nosiče Carrier RNA ve zkumavce může být nosič v lahvičce obtížně viditelný.
- Neprovádějte opakované zmrazování a rozmrazování nebo zahřívání rekonstituovaného nosiče Carrier RNA. Časté cykly zmrazení a rozmrazení, časté zahřívání, teploty > 80 °C a déletrvající inkubace v teple urychlují degeneraci nosiče Carrier RNA. Rekonstituované alikvoty proteinázy Proteinase K a nosiče Carrier RNA je doporučeno skladovat.

NucleoMag® Dx Pathogen

REFERENCE	4 x 96 dávek 744215.4
Proteinase K (lyophilized)	3 lahvičky (75 mg/lahvička) Před prvním použitím přidejte 3,35 mL pufru PB.
Carrier RNA (lyophilized)	4 lahvičky (400 µg/lahvička) Před prvním použitím rozpustte v 500 µL pufru Carrier RNA.

4 Bezpečnostní pokyny

Při práci se sadou **NucleoMag® Dx Pathogen** používejte vhodné osobní ochranné prostředky (např. laboratorní plášť, jednorázové rukavice a ochranné brýle). Více informací naleznete v příslušných bezpečnostních listech (Material Safety Data Sheets (MSDS), které jsou k dispozici online na adrese www.mn-net.com/msds).



Upozornění: Guanidin hydrochlorid v lytickém pufru Lysis Buffer NPL1, perchlorát sodný v pufru NPB2, NPW3, NPW4 a guanidin thiocyanát v pufru Carrier RNA mohou při kombinaci s bělidlem vytvářet vysoce reaktivní sloučeniny. Proto nepřidávejte přímo do odpadu po přípravě vzorků bělidlo ani kyselá látka.

*Odpad vznikající při používání sady **NucleoMag® Dx Pathogen** nebyl testován na přítomnost reziduálního infekčního materiálu. Kontaminace kapalného odpadu reziduálním infekčním materiálem je vysoce nepravděpodobná díky použití silného denaturujícího lytického pufru Lysis Buffer a proteinázy Proteinase K, ale nelze ji zcela vyloučit. Proto je nutné považovat kapalný odpad za infekční a nakládat s ním a likvidovat jej v souladu s místními bezpečnostními předpisy.*

4.1 Likvidace

Likvidujte nebezpečné, infekční nebo biologicky kontaminované materiály bezpečným a přijatelným způsobem, který je v souladu se všemi místními předpisy.

5 Protokol k izolaci virové RNA ze sčěrů z dýchacích cest a slin a virové RNA a virové DNA ze vzorků lidské stolice

Konkrétní kroky protokolu se mohou lišit v závislosti na dostupných spotřebních látkách, hardwaru, platformách a nastavení přístrojů. Automatický proces nebo skript pro extrakci virové RNA a virové DNA pomocí sady NucleoMag® Dx Pathogen na různých automatických platformách musí být uživatelem validován společně s konkrétní následnou analýzou.

Níže uvedený postup je návodem pro manuální zpracování samostatného vzorku v Square-well Block v kombinaci s přístrojem Eppendorf Thermomixer comfort. Nicméně, manuálním i automatickým způsobem lze zpracovat více vzorků (až 96 na jeden Square-well Block) současně. Než začnete s extrakcí nebo implementací této sady na automatických platformách, pečlivě si přečtete část 2.

5.1 Příprava materiálu vzorků

Sada NucleoMag® Dx Pathogen je vhodná pro práci s čerstvými neošetřenými lidskými sčery z dýchacích cest, slinami a neupravenými vzorky lidské stolice. Nazofaryngeální (NP) sčery lze ve zdravotnictví použít k testování asymptomatických osob. Při testování symptomatických pacientů mohou být vyžadovány jiné systémy pro sběr vzorků. Jsou doporučeny syntetické vláknité sčerovky s plastovými tyčinkami. Sčerovky s obsahem kalcium alginátu, sčerovky s dřevěnými tyčinkami ani stabilizované vzorky lidské stolice se nedoporučují, protože obsahují látky, které mohou inhibovat testování PCR. Dodržujte platná pravidla pro sběr klinických vzorků, manipulaci s nimi a jejich skladování a ostatní preanalytické požadavky.

Dodržujte platná pravidla pro sběr klinických vzorků, manipulaci s nimi a jejich skladování a ostatní preanalytické požadavky.

a) Vzorky ze sčěrů

Inkubujte sčery v PBS, chloridu sodném nebo buněčném kultivačním médiu po dobu 30 min za současného protřepávání. Ujistěte se, že je hlavička sčerovky kompletně ponořená. Přeneste 200 µL tohoto roztoku k dalšímu zpracování. Pokud je to nutné, přitlačte tampón sčerovky proti stěně zkumavky, aby se z něj vymačkala zbylá kapalina.

b) Sliny

Čerstvé neošetřené vzorky slin lze přímo předat k postupu extrakce. V případě velmi viskózních vzorků je doporučeno naředit vzorky slin pomocí sterilního PBS. Přeneste 100 µL nebo 200 µL roztoku k dalšímu zpracování. Při zpracování vzorku menšího než 200 µL upravte objem pomocí pufru PBS na finálních 200 µL.

c) Stalice

Smíchejte 1 objem výkalů (např. 500 µL nebo množství o velikosti hrášku) se stejným objemem pufru PBS nebo sterilní ddH₂O bez obsahu RNáz. Intenzivně vortexujte po dobu 10 sekund. Odstřeďte nízkou rychlostí po dobu 3 minut při 500 × g. K dalšímu zpracování přeneste 200 µL čirého supernatantu.

Před zahájením přípravy:

- Zkontrolujte, jestli byla proteináza Proteinase K připravena podle bodu 3.
- Zkontrolujte, jestli byl nosič Carrier RNA připraven podle bodu 3.
- Zkontrolujte, jestli je k dispozici 80% etanol (ne denaturovaný).
- Zkontrolujte, jestli jsou automatická platforma a protřepávací zařízení správně nastavené.
- Vyrovnejte teplotu vzorků s pokojovou teplotou (18–25 °C). Zkontrolujte, jestli jsou vzorky správně promícháné.
- Obecně platí, že se nesmí míchat reagenty z různých sad a šarží.
- Nepřidávejte proteinázu Proteinase K přímo do lytického pufru Lysis Buffer NPL1. Vzorek musí být nejprve smíchán s lytickým pufrům Lysis Buffer NPL1, než bude přidána proteináza Proteinase K.
- Všechny kroky zpracování mají být prováděny při pokojové teplotě (18–25 °C).

5.2 Přehled protokolu

Dodatečný přehled protokolu:

Než zahájíte postup, pečlivě si přečtěte podrobný protokol (část 5.3) i část 2. Níže uvedený postup je návodem pro manuální zpracování samostatného vzorku v Square-well Block v kombinaci s přístrojem Eppendorf Thermomixer comfort.

Nenavhčujte okraje slotů.

1	Poskytnutí vzorku a provedení lýzy virů
1	200 µL vzorku v Square-well Block
2	180 µL lytického pufru Lysis Buffer NPL1
3	4 µL standardního roztoku nosiče Carrier RNA
4	20 µL roztoku proteinázy Proteinase K
5	Dobře promíchejte opakovaným přepipetováním nebo protřepáním
6	Inkubujte při pokojové teplotě po dobu 15 min při 600 ot/min
2	Vázání nukleových kyselin
7	20 µL částic NucleoMag® B-Beads
8	600 µL vázacího pufru Binding Buffer NPB2
9	Dobře promíchejte opakovaným přepipetováním nebo protřepáním a inkubujte po dobu 5 min při 1000 ot/min
10	Separujte magnetické částice po dobu 2 min
11	Odstraňte supernatant
12	Vyjměte Square-well Block z magnetického separátoru NucleoMag® SEP

-
- 3 Promytí magnetických částic**
- 13 600 µL promývacího pufru Wash Buffer NPW3
 - 14 Dobře promíchejte opakovaným přepipetováním nebo protřepáním a inkubujte po dobu 2 min při 1000 ot//min
 - 15 Separujte magnetické částice po dobu 2 min
 - 16 Odstraňte supernatant
 - 17 Vyjměte Square-well Block z magnetického separátoru NucleoMag® SEP
 - 18 600 µL promývacího pufru Wash Buffer NPW4
 - 19 Dobře promíchejte opakovaným přepipetováním nebo protřepáním a inkubujte po dobu 2 min při 1000 ot//min
 - 20 Separujte magnetické částice po dobu 2 min
 - 21 Odstraňte supernatant
 - 22 Vyjměte Square-well Block z magnetického separátoru NucleoMag® SEP
 - 23 600 µL 80% etanolu
 - 24 Dobře promíchejte opakovaným přepipetováním nebo protřepáním a inkubujte po dobu 2 min při 1000 ot//min
 - 25 Separujte magnetické částice po dobu 2 min
 - 26 Odstraňte supernatant
-

- 4 Sušení**
- 27 Nechte magnetické částice vyschnout na vzduchu při pokojové teplotě po dobu 10 min
-

- 5 Eluce nukleových kyselin**
- 28 Vyjměte Square-well Block z magnetického separátoru NucleoMag® SEP
 - 29 100 µL elučního pufru Elution Buffer NPE5
 - 30 Dobře promíchejte opakovaným přepipetováním nebo protřepáním
 - 31 Inkubujte po dobu 5 min při 1000 ot//min
 - 32 Separujte magnetické částice po dobu 2 min
 - 33 Přeneste supernatant vymytého vzorku na eluční destičku
-

5.3 Podrobný protokol

Níže uvedený postup je návodem k manuálnímu zpracování samostatného vzorku v Square-well Block v kombinaci s magnetickým separátorem NucleoMag® SEP a přístrojem Eppendorf Thermomixer comfort. Konkrétní kroky protokolu se mohou lišit v závislosti na dostupných spotřebních látkách, hardwaru, platformách a nastavení přístrojů a musí být validovány uživatelem.

Alternativně lze provést izolaci virální RNA a virální DNA v reakčních zkumavkách pomocí vhodných magnetických separátorů. Tento protokol je určen k manuálnímu použití a slouží také jako postup pro adaptaci sady na automatických přístrojích.

Nenavhčujte okraje slotů.

- 1** Přeneste **200 µL vzorku** do každého slotu Square-well Block.
- 2** Přidejte **180 µL lytického Lysis Buffer pufu NPL1** do každého vzorku.
- 3** Přidejte **4 µL standardního roztoku nosiče Carrier RNA** do každého vzorku.
- 4** Přidejte **20 µL roztoku proteinázy Proteinase K** do každého vzorku.
- 5** Dobře promíchejte opakovaným přepipetováním nebo protřepáním.
Volitelné: Utěsněte destičku pomocí vhodné lepicí fólie.
- 6** Inkubujte po dobu **15 min při pokojové teplotě** při 600 ot/min.
Volitelné: V případě utěsněné nebo uzavřené destičky: Krátce snižte rychlost otáčení, abyste sebrali případné zbytky vzorků z víčka.
- 7** Přidejte **20 µL resuspendovaných částic NucleoMag® B-Beads** do každého vzorku.
Poznámka: Než vyjmete částice NucleoMag® B-Beads ze skladovací lahvičky, ujistěte se, že jsou zcela resuspendované. Vortexujte skladovací lahvičku, dokud nevznikne homogenní suspenze částic.
- 8** Přidejte **600 µL vázacího pufu Binding Buffer NPB2** do každého vzorku.
- 9** Dobře promíchejte opakovaným přepipetováním nebo protřepáním a inkubujte po dobu 5 min při 1000 ot/min.
Poznámka: Měli byste vidět homogenní roztok.
- 10** Umístěte Square-well Block do magnetického separátoru NucleoMag® SEP.
- 11** Vyčkejte nejméně 2 minuty, než se všechny částice připojí k magnetu.
Poznámka: V závislosti na typu vzorku byste měli vidět čirý roztok.
- 12** Opatrně pipetou odstraňte supernatant a zlikvidujte jej.
Poznámka: Nenarušte při aspiraci supernatantu navázané magnetická částice.
- 13** Vyjmete Square-well Block z magnetického separátoru NucleoMag® SEP.
- 14** Přidejte **600 µL pufu Buffer NPW3** do každého vzorku.
- 15** Přesuňte Square-well Block do přístroje Thermomixer.
- 16** Resuspendujte magnetické částice protřepáním při 1000 ot/min po dobu 2 min, dokud nebudou částice kompletně resuspendovány.
- 17** Umístěte Square-well Block do magnetického separátoru NucleoMag® SEP.
- 18** Vyčkejte nejméně 2 minuty, než se všechny částice připojí k magnetu.

- 19 Opatrně pipetou odstraňte supernatant a zlikvidujte jej.
 - 20 Vyjměte Square-well Block z magnetického separátoru NucleoMag® SEP.
 - 21 Přidejte **600 µL pufru Buffer NPW4** do každého vzorku.
 - 22 Přesuňte Square-well Block do přístroje Thermomixer.
 - 23 Resuspendujte magnetické částice protřepáním při 1000 ot/min po dobu 2 min, dokud nebudou částice kompletně resuspendovány.
 - 24 Umístěte Square-well Block do magnetického separátoru NucleoMag® SEP.
 - 25 Vyčkejte nejméně 2 minuty, než se všechny částice připojí k magnetu.
 - 26 Opatrně pipetou odstraňte supernatant a zlikvidujte jej.
 - 27 Vyjměte Square-well Block z magnetického separátoru NucleoMag® SEP.
 - 28 Přidejte **600 µL 80% etanolu** do každého vzorku.
 - 29 Přesuňte Square-well Block do přístroje Thermomixer.
 - 30 Resuspendujte magnetické částice protřepáním při 1000 ot/min po dobu 2 min, dokud nebudou částice kompletně resuspendovány.
 - 31 Umístěte Square-well Block do magnetického separátoru NucleoMag® SEP.
 - 32 Vyčkejte nejméně 2 minuty, než se všechny částice připojí k magnetu.
 - 33 Opatrně pipetou odstraňte supernatant a zlikvidujte jej.
 - 34 Nechte granule magnetických částic vyschnout na vzduchu při pokojové teplotě po dobu 10 min.
Poznámka: Před sušením odstraňte veškerý 80% etanol z posledního kroku promytí.
 - 35 Vyjměte Square-well Block z magnetického separátoru NucleoMag® SEP.
 - 36 Přidejte **100 µL elučňního pufru Elution Buffer NPE5** do každé reakční nádoby.
 - 37 Přesuňte Square-well Block do přístroje Thermomixer.
 - 38 Resuspendujte magnetické částice opatrným protřepáváním po dobu 5 minut při pokojové teplotě a o frekvenci 1000 ot/min, dokud nebudou kompletně resuspendovány.
 - 39 Umístěte Square-well Block do magnetického separátoru NucleoMag® SEP.
 - 40 Vyčkejte nejméně 2 minuty, než se všechny částice připojí k magnetu.
 - 41 Opatrně přeneste vymyté vzorky na vhodnou elučň destičku.
Poznámka: Nerozrušte granule magnetických částic.
-

6 Dodatek

6.1 Řešení problémů

Problém	Možná příčina a doporučení
Nízká výtěžnost / nízká senzitivita	<i>Nekompletní lýza vzorku</i>
	<ul style="list-style-type: none"> Vzorek smíchaný s lytickým pufrům Lysis Buffer a proteinázou Proteinase K nebyl dostatečně homogenizován a promíchán s těmito reagensy. Směs nebyla souvisle protřepávána. Alternativně lze prodloužit čas inkubace s proteinázou Proteinase K.
	<i>Nedostatečný objem elučního pufru Elution Buffer</i>
	<ul style="list-style-type: none"> Granule částic musí být kompletně pokryty elučním pufrům Elution Buffer a musí se zcela resuspendovat.
<i>Nedostatečná funkce elučního pufru Elution Buffer během eluce</i>	<ul style="list-style-type: none"> Po krocích navázání a promytí kompletně odstraňte z granulí částic všechny pufrы. Zbytky pufru snižují účinnost následujících kroků.
<i>Aspirace navázaných granulí částic</i>	<ul style="list-style-type: none"> Nenarušte při aspiraci supernatantu navázané magnetická částice. Při odstraňování lyzátu od částic je zapotřebí zvláštní opatrnost, protože lyzát je obvykle tak neprůhledný, že neumožňuje vizuální kontrolu granulí.
<i>Aspirace a ztráta částic</i>	<ul style="list-style-type: none"> Čas pro magnetickou separaci je příliš krátký nebo rychlost aspirace je příliš vysoká.
Nízká čistota / nízká senzitivita	<i>Nedostatečný postup promytí</i>
	<ul style="list-style-type: none"> Používejte pouze správné kombinace separátorů a destiček, například Square-well Block společně s magnetickým separátorem NucleoMag® SEP. Ujistěte se, že jsou částice během postupu promývány kompletně resuspendované (rovnoměrně zahnědlá kapalina). Pokud protřepání nestačí na kompletní resuspenzi částic, protřepejte roztok opakovaným přepipetováním.

Problém	Možná příčina a doporučení
<p>Nedostatečná výkonnost následných aplikací RNA/ DNA/ inhibice (RT)-qPCR</p>	<p><i>Zbytky etanolu z promývacích pufrů Wash Buffer</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Odstraňte veškerý 80% etanol z posledního kroku promytí. Zbytky etanolu narušují následné aplikace. • Po každé magnetické separaci aspirujte veškerý supernatant. Po každém odstranění supernatantu dvakrát zkontrolujte, jestli uvnitř nezůstávají zbytky promývacích pufrů Wash Buffer. Pokud po odstranění supernatantu zůstávají velké objemy pufrů, upravte výšku aspirace. <p><i>Vypařování etanolu z promývacích pufrů Wash Buffer</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Pečlivě uzavírejte lahvičky s pufrů, zabraňte vypařování etanolu z lahviček s pufrů i z pufrů naplněných v zásobnících. Pufrů ze zásobníků pufrů nepoužívejte opakovaně.
<p>Přenesení částic</p>	<p><i>Čas pro magnetickou separaci je příliš krátký.</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Prodlužte čas pro separaci, aby se částice mohly před aspirací kapaliny ze slotu kompletně připojit na magnetické kolíky. <p><i>Rychlost aspirace je příliš vysoká (krok eluce)</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Vysoká rychlost aspirace nebo nesprávně nastavená výška aspirace během kroku eluce mohou způsobit přenesení částic. Snižte rychlost aspirace a upravte výšku aspirace v kroku eluce.

6.2 Povinné hlášení

Upozorňujeme, že jakoukoli závažnou událost, která se vyskytne v souvislosti s tímto produktem, je nutné ihned nahlásit výrobci a odpovědnému orgánu členského státu, ve kterém k události došlo. Evropské kontaktní body vigilance: https://ec.europa.eu/health/md_sector/contact_en

6.3 Přehled literatury

Thiemann F. et al. (2006) Leitfaden Molekulare Diagnostik - Grundlagen, Gesetze, Tipps und Tricks, WILEY-VCH, 1st ed., ISBN 3-527-31471-7.

Paysic J. et al- (2015). Standardization of Nucleic Acid Tests for Clinical Measurements of Bacteria and Viruses. J Clin Microbiol., 53(7), 2008–14.

Cohen, J. et al. (2016) Infectious Diseases, Elsevier, 4th ed., ISBN: 9780702062858.

Vemula S. V. et a. (2016) Current Approaches for Diagnosis of Influenza Virus Infections in Humans, Viruses 8(4), 96.

6.4 Informace pro objednávky

Produkt	REFERENCE	Velikost balení
Sady s označením CE-IVD		
NucleoMag [®] Dx Pathogen	744215.4	384 dávek
NucleoSpin [®] Dx Virus	740895.50	50 dávek
NucleoSpin [®] Dx Blood	740899.50 740899.250	50 dávek 250 dávek
NucleoSpin [®] Dx RNA Blood	740201.50	50 dávek
Sada pro výzkumné účely		
NucleoMag [®] Pathogen (RUO)	744210.1 744210.4	1 × 96 dávek 4 × 96 dávek
Destičky NucleoMag [®] Pathogen Prefilled Plates (RUO)	744211	96 dávek
Doplňkové produkty		
NucleoMag [®] SEP	744900	1
Square-well Blocks	740481 740481.24	4 24

Více informací o produktech najdete na adrese www.mn-net.com.

6.5 Vysvětlivky symbolů



Číslo položky



Identifikace šarže



Výrobce



Diagnostické produkty *in vitro*



Nastudujte si návod k použití.



Dostatečné pro tento počet testů: <n>



Přípustný rozsah teplot pro skladování



Datum spotřeby



Upozornění: Více informací najdete v uživatelské příručce.



Nepoužívejte opakovaně.



384

6.6 Omezení použitelnosti produktu / záruka

Sada NucleoMag[®] Dx Pathogen je generický systém pro izolaci a purifikaci virové RNA ze vzorků lidských stěrů z dýchacích cest nebo slin nebo virální RNA a virální DNA z neupraveným vzorků lidské stolice pro následné diagnostické účely *in vitro*.

Tuto sadu lze použít s jakoukoli následnou aplikací, která zahrnuje enzymatickou amplifikaci a detekci RNA nebo DNA (např. RT-PCR, qPCR).

Jakékoli diagnostické výsledky získané z nukleových kyselin izolovaných pomocí sady **NucleoMag[®] Dx Pathogen** společně s dalšími diagnostickými analýzami je nutné interpretovat s ohledem na další klinické i laboratorní nálezy.

Sada **NucleoMag[®] Dx Pathogen** nevytváří žádné diagnostické výsledky. Je výhradní odpovědností uživatele, aby tuto sadu validoval společně s následnými diagnostickými analýzami *in vitro*. POUZE produkty společnosti MACHEREY-NAGEL označené jako IVD jsou vhodné pro diagnostické použití *in vitro*.

Bezpečnostní pokyny najdete v příslušné kapitole uživatelské příručky nebo v listech MSDS. Sadu **NucleoMag[®] Dx Pathogen** se smí používat výhradně ve vhodných podmínkách pro testování, tzn. ve vhodném laboratorním prostředí. Uživatel je odpovědný za jakoukoli a veškerou škodu, která vznikne použitím sady **NucleoMag[®] Dx Pathogen** jiným způsobem, než je popsáno v uživatelské příručce.

Tento produkt společnosti MACHEREY-NAGEL je dodáván společně s dokumentací, která obsahuje jeho specifikace a další technické informace. Společnost MACHEREY-NAGEL zaručuje, že produkt splňuje uvedené specifikace. Závazek společnosti MACHEREY-NAGEL a nárok

zákazníka je omezen na bezplatnou výměnu produktů v případě, že nesplňují uvedené záruky. Na produkt se také vztahují obecné obchodní podmínky společnosti MACHEREY-NAGEL, které jsou vytištěny na ceníku. Pokud si přejete jejich kopii, kontaktujte nás.

Společnost MACHEREY-NAGEL neposkytuje záruku na škody nebo závady vzniklé při přepravě produktu a manipulaci s ním (mimo transportní pojištění pro zákazníky) nebo v důsledku nehody či nesprávného použití tohoto produktu ani za ně nenese odpovědnost. Totéž platí pro závady produktů či součástí, které nevrobila společnost MACHEREY-NAGEL, nebo pro škody vzniklé kvůli takovýmto produktům či součástem jiných výrobců než společnosti MACHEREY-NAGEL.

Společnost MACHEREY-NAGEL neposkytuje žádné další záruky žádného druhu a SPECIFICKY VYLUČUJE JAKÉKOLI JINÉ ZÁRUKY JAKÉHOKOLI DRUHU, PŘÍMÉ ČI NEPŘÍMÉ, VYŘČENÉ ČI NAZNAČENÉ, VČETNĚ ZÁRUK VHODNOSTI, REPRODUKTIVITY, ODOLNOSTI, VHODNOSTI KE KONKRÉTNÍMU ÚČELU NEBO POUŽITÍ, PRODEJNOSTI, STAVU NEBO JAKÉKOLI JINÉ ZÁLEŽITOSTI TÝKAJÍCÍ SE PRODUKTŮ SPOLEČNOSTI MACHEREY-NAGEL.

Společnost MACHEREY-NAGEL není v žádném případě povinná poskytovat náhrady za jakékoli jiné škody, přímé či nepřímé, vedlejší, kompenzační, předvídatelné, následné nebo zvláštní (včetně ztráty použitelnosti, výnosu či zisku), ať už se zakládá na záruce, kontraktu, deliktu (včetně zanedbání), nebo čisté odpovědnosti vyplývající ze spojení s prodejem produktů společnosti MACHEREY-NAGEL nebo jejich neschopnosti fungovat v souladu s uvedenými specifikacemi. Tato záruka je exkluzivní a společnost MACHEREY-NAGEL neposkytuje žádné další záruky, vyřčené nebo naznačené.

Zde uvedená záruka a data, specifikace a popis tohoto produktu společnosti MACHEREY-NAGEL uvedené v publikovaných katalozích společnosti MACHEREY-NAGEL a dokumentaci příslušných produktů jsou výhradními dokumenty společnosti MACHEREY-NAGEL, které se vztahují k tomuto produktu a jeho záruce. Žádné další výroky, písemné či ústní, od zaměstnanců, agentů nebo zástupců společnosti MACHEREY-NAGEL, kromě písemných vyjádření podepsaných řádně autorizovaným zástupcem společnosti MACHEREY-NAGEL, nejsou platné. Zákazníci se na ně nesmí spoléhat a nejsou součástí prodejní smlouvy nebo této záruky.

Informace o produktech se mohou měnit. Proto se obraťte na tým technického servisu a požádejte o nejaktuálnější informace o produktech společnosti MACHEREY-NAGEL. Chcete-li získat obecné vědecké informace, můžete kontaktovat také svého místního distributora. Aplikace uvedené v dokumentech společnosti MACHEREY-NAGEL slouží pouze pro informační účely. Společnost MACHEREY-NAGEL nezaručuje, že veškeré aplikace byly testovány v laboratořích společnosti MACHEREY-NAGEL pomocí produktů společnosti MACHEREY-NAGEL. Společnost MACHEREY-NAGEL nezaručuje správnost žádných z těchto aplikací.

Poslední aktualizace: Červenec 2025 / Rev. 04

Důvody k revizi:

- Reference pro nové jazyky uživatelské příručky.
- Rozšíření zamýšleného použití o virovou RNA a virovou DNA z nestabilizovaných/neupravených vzorků lidské stolice. V důsledku toho byly aktualizovány následující části: Omezení použití produktu (2.2), Základní princip (2.4), Kvalita a příprava vzorků (2.6), Údaje o analytické a klinické funkci (2.9), Příprava materiálu vzorků (5.1). Shrnutí změn:

Bylo přidáno použití vzorků stolice a termín „virová RNA“ byl změněn na „virová RNA a virová DNA“ v odpovídajícím kontextu.

- V části „Přehled protokolu“ (5.2) byl termín „Vázání/eluce RNA“ změněn na „Vázání/eluce nukleových kyselin“.
- Byly aktualizovány kontaktní údaje společnosti MACHEREY-NAGEL. Byly aktualizovány informace pro objednávky o produkty NucleoSpin® Dx RNA Blood a destičky NucleoMag® Pathogen Prefilled Plates (RUO). Byl aktualizován materiál vzorků o „vzorky stolice“.

Kontaktní údaje:

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG

Tel.: +49 24 21 969-333

support@mn-net.com

Ochranné známky:

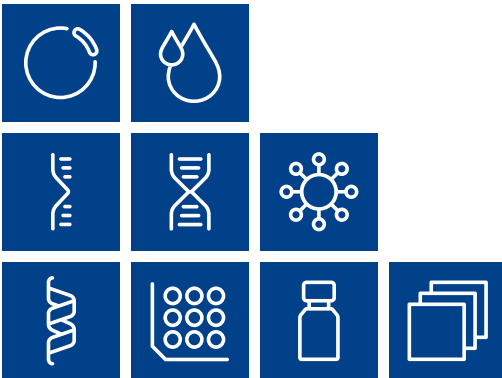
NucleoMag® a NucleoSpin® jsou registrované ochranné známky společnosti MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG, Německo

KingFisher a AgPath-ID jsou ochranné známky společnosti Thermo Fisher Scientific, USA

Te-Shake je ochranná známka společnosti Tecan Group Ltd., Švýcarsko

epMotion je ochranná známka společnosti Eppendorf AG, Německo

Všechny použité názvy a označení mohou být značkami, ochrannými známkami nebo registrovanými označeními svých konkrétních vlastníků – i v případě, že se nejedná o žádné specifické označení. Zmínění produktů a značek má pouze informativní charakter (nejedná se o porušení ochrany ochranné známky a značky a nelze ho považovat za doporučení nebo hodnocení). U těchto produktů nebo služeb nemůžeme poskytnout žádné garance ohledně výběru, účinnosti nebo funkce.



Plasmid DNA

Clean up

RNA

DNA

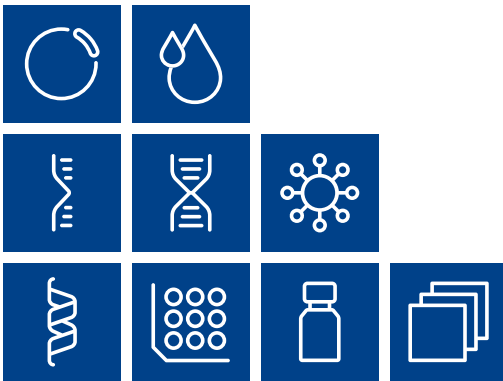
Viral RNA and DNA

Protein

High throughput

Accessories

Auxiliary tools



www.mn-net.com

MACHEREY-NAGEL



MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG · Valencienner Str. 11 · 52355 Düren · Germany

DE +49 24 21 969-0 info@mn-net.com

CH +41 62 388 55 00 sales-ch@mn-net.com

FR +33 388 68 22 68 sales-fr@mn-net.com

US +1 888 321 62 24 sales-us@mn-net.com