

Obsah

I) CÍL METODIKY

II) VLASTNÍ POPIS METODIKY

1	Popis postupu analýzy odpadních vod a jejich kontrolních bodů	3
1.1	Kontrola odběru vzorku využitím stanovení indikátorů fekálního znečištění.....	4
1.2	Kontrola procesu zpracování vzorku (zakoncentrování virových částic a izolace nukleových kyselin) s využitím umělé kontaminace vzorku	5
1.3.	Detekce specifických oblastí genomu SARS-CoV-2	5
2	Předmět a působnost.....	8
2.1	Podstata zkoušky	8
2.2	Přístrojové vybavení a zařízení laboratoře	8
2.3	Chemikálie a roztoky.....	9
2.3.1	Polyetylen glykol (PEG) a chlorid sodný (NaCl).....	9
2.3.2	Fosfátový pufr (PBS)	9
2.3.3	Etanol	9
2.3.4	Souprava k izolaci nukleových kyselin.....	9
2.3.5	Carrier RNA	9
2.3.6	Inhibitor RNáz.....	9
2.3.7	Příprava kvantifikačního standardu a RNA IAC.....	9
2.3.8	Specifické oligonukleotidy (primery a sondy)	10
2.3.9	Souprava pro reverzní transkripci	10
2.3.10	Nukleotidy	10
2.3.11	Voda pro PCR	10
2.3.12	Reakční směs pro nekompetitivní qPCR.....	10
2.3.13	Uracil-DNA-glykosyláza (UDG)	10
2.4	Postup zkoušky	11
2.4.1	Bezpečnostní opatření	11
2.4.2	Okolní podmínky zkoušky	11
2.4.3	Množství vzorku.....	11
2.4.4	Slepý pokus	11
2.4.5	Replikáty	12
2.4.6	Postup zakoncentrování virových částic ze vzorků odpadní vody.....	12
2.4.7	Izolace nukleových kyselin	12
2.4.8	Protokol reverzní transkripce	14
2.4.9	Protokol PCR.....	15
3	Výpočet a vyjádření výsledku	17
3.1	Hodnocení výstupu	17
3.1.1	Kvalitativní hodnocení	17
3.1.2	Kvantitativní hodnocení	17
4	Validace.....	18
4.1	Specifita	18
4.2	Optimalizace reakčních podmínek	19
4.3	Charakteristika metodického postupu a systému RT-qPCR k detekci specifických oblastí genomu SARS-CoV-2	19
4.3.1	Citlivost/limit detekce (LOD), opakovatelnost účinnost metodického postupu	19
5	Operativní řízení jakosti	20

III) SROVNÁNÍ NOVOSTI POSTUPŮ

IV) POPIS UPLATNĚNÍ METODIKY

V) SEZNAM POUŽITÉ SOUVISEJÍCÍ LITERATURY