

## Kit de Extração e Purificação de Ácidos Nucleicos

### APRESENTAÇÃO COMERCIAL

| Referência | Número de testes/Kit | Característica |
|------------|----------------------|----------------|
| PCSYMF-02  | 48 testes            | Sem etanol     |
| PCSYMF-03  | 96 testes            | Sem etanol     |
| PCSYMF-05  | 48 testes            | Com etanol     |
| PCSYMF-06  | 96 testes            | Com etanol     |

Tabela 1 – Apresentação comercial

### FINALIDADE E USO DO PRODUTO

O Kit de Extração e Purificação de Ácidos Nucleicos destina-se à extração, enriquecimento e purificação de ácidos nucleicos (DNA / RNA) do soro, plasma, amostras de sangue total, esfregaço nasal, esfregaço faríngeo, esfregaço nasofaríngeo e esfregaço urogenital.

O ácido nucleico purificado é usado para aplicação em diagnóstico molecular e não se destina ao diagnóstico, prevenção ou tratamento direto de uma doença.

Somente para uso diagnóstico "IN VITRO"

### PRINCÍPIO DE AÇÃO

O Kit de Extração e Purificação de Ácidos Nucleicos combina as propriedades de ligação seletiva de uma membrana à base de sílica ao ácido nucleico (método de Boom) com a velocidade da tecnologia micro-spin e fornece a maneira mais rápida e fácil de purificar o ácido nucleico de várias amostras para uso confiável em tecnologias de amplificação.

A amostra é primeiramente lisada sob condições de alta desnaturação para inativar a nuclease e garantir o isolamento de ácido nucleico. As condições do buffer são então ajustadas para fornecer a ligação ideal do ácido nucleico à membrana de sílica, e a amostra é carregada na Coluna de Centrifugação. O ácido nucleico se liga à membrana e os contaminantes são eficientemente lavados em duas etapas, usando dois tampões de lavagem diferentes.

O ácido nucleico de alta qualidade é eluído em uma solução especial buffer livre de nuclease, pronto para uso direto ou armazenamento seguro. O ácido nucleico purificado está livre de proteínas, nucleases e outros contaminantes e inibidores. O tampão e a membrana especiais garantem uma recuperação extremamente ultra-pura de ácido nucleico intacto em 30 minutos, sem o uso de extração com fenol-clorofórmio ou precipitação com álcool.

### RELAÇÃO DE COMPONENTES DO PRODUTO

O Kit de Extração e Purificação de Ácidos Nucleicos inclui os seguintes materiais e reagentes detalhados na tabela a seguir, as versões sem etanol, necessitam adicionar a substância aos Buffer AW1 e AW2.

**Notas:** 1) Não misture os componentes de diferentes lotes para detecção.

2) O Buffer AVL e o AW1 Concentrado contém agente caotrópico que é um irritante. Não é compatível com reagentes de desinfecção que contenham lixívia. (Para mais informações leia em PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS)

3) Para as versões sem etanol, após romper o lacre do Buffer AW1 E AW2 Concentrado, adicione etanol anidro.

4) Após romper o lacre do Buffer AVE e do RNA Transportador, e misture todo o conteúdo dos dois componentes. O RNA Transportador dissolvido deverá ser armazenado a -20°C por até 6 meses.

| Componente                         | Volume    |           | Ingrediente        |
|------------------------------------|-----------|-----------|--------------------|
|                                    | 48 testes | 96 testes |                    |
| Buffer AVL                         | 19,2 mL   | 38,4 mL   | Tris*, GuHCl, SDS  |
| Buffer AW1 Concentrado             | 14,4 mL   | 28,8 mL   | Tris*, GuHCl       |
| Buffer AW2 Concentrado             | 9,6 mL    | 9,6 mLx2  | Tris*, NaCl        |
| Buffer AVE                         | 5,25 mL   | 10,5 mL   | Tris*              |
| RNA Transportador (pó liofilizado) | 192 µL    | 384 µL    | PolyA              |
| Protease K                         | 640 µL x2 | 640 µL x3 | Protease K         |
| Coluna de Centrifugação            | 48        | 96        | Membrana de sílica |

\* Tris = hidroximetilaminometano

Tabela 2 – Componentes do produto

### COMPONENTES NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

- Etanol anidro (não use álcool desnaturado que contenham outras substâncias como metanol ou metil etil cetona).
- Pontas de pipeta estéreis com barreiras de aerosol para evitar a contaminação cruzada
- Tubos de microcentrifuga de 1,5mL.
- Microcentrifuga pra tubos de 1,5 mL a 2,0 mL.
- Banhos de metal para tubos de 1,5 mL a 2,0 mL.
- Vórtex
- Luvas descartáveis sem pó.

### PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

| Componente             | Reagente de Adição | Volume de adição / Kit |           |
|------------------------|--------------------|------------------------|-----------|
|                        |                    | 48 testes              | 96 testes |
| Buffer AW1 Concentrado | Etanol Anidro*     | 10 mL                  | 20 mL     |
| Buffer AW2 Concentrado | Etanol Anidro*     | 40 mL                  | 40 mLx2   |
| RNA Transportador      | Buffer AVE         | 192 µL                 | 384 µL    |

\* Somente nas versões sem etanol.

Tabela 3 – Preparação dos reagentes

### ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Todos os reagentes são estáveis por 12 meses enquanto armazenados em temperatura ambiente 8°C e 25°C. Consulte o rótulo para data de fabricação e de validade.

### AMOSTRAS

#### • Sangue Total

Colete 5mL de sangue venoso do paciente, por equipamento de coleta de sangue a vácuo (EDTA anticoagulante) e misture-o imediatamente pelo menos 8 vezes.

#### • Soro

Use seringa descartável ou tubo de coleta de sangue a vácuo sem anticoagulante para coletar 5 mL de sangue venoso do paciente, coloque-o à temperatura ambiente e leve o soro separado para teste.

#### • Plasma

Colete 5mL de sangue venoso do paciente, com tubo de coleta de sangue a vácuo (anticoagulante: heparina, EDTA, citrato, ACD), misture-o imediatamente pelo menos 8 vezes, centrifugue a 4000rpm por 5 minutos e retire o plasma para exame. As amostras de soro e plasma podem ser armazenadas por 48 horas a 2-8 °C e congeladas por um longo período a -20 °C.

**Nota:** A amostra de sangue total pode ser mantida por 48 horas a 2-8 °C. As amostras de soro e plasma podem ser mantida por 48 horas a 2-8 °C, ou congeladas por um longo período a -20°C. Congelamento e descongelamento repetido das amostras deve ser evitado. As amostras de soro e plasma para transporte precisam ser acondicionadas a baixa temperatura, de acordo com as normas de biossegurança.

#### • Swab Nasal

Inserir o swab na cavidade nasal paralelo ao palato superior, coloque-o por 2-3 segundos para absorver a secreção; deve-se coletar amostras de ambos os lados da cavidade nasal.

#### • Swab Faríngeo (garganta)

Inserir o swab pela boca, limpe a parede posterior da faringe e as amígdalas de ambos os lados, com força moderada para evitar tocar a língua.

#### • Swab Nasofaríngeo

Aplique suavemente o swab para dentro da narina até a parte de trás da nasofaringe (Nota: não use força), gire-a suavemente, e permaneça por cerca de 20-30 segundos, depois tire-o rapidamente.

#### • Swab Urogenital

O swab precisa ser inserido de 2-3 cm na uretra feminina e masculina ou no colo uterino e girados de 1 a 2 círculos para inspeção, para evitar que o esfregaço seja contaminado pela secreção vaginal.

**Nota:** Os esfregaços nasais, os faríngeos, os nasofaríngeos e os urogenitais devem ser rapidamente colocados em tubo contendo 1 ml de solução salina estéril e a tampa do tubo deverá ser apertada e selada para evitar a secagem. As amostras poderão ser mantidas por 48 horas de 2-8 °C, ou congelado por um longo período de -20 °C a -70 °C.



Amostras de sangue e produtos do sangue são fontes de agentes infecciosos em potencial. Manuseie todos os produtos do sangue e componentes do teste com cuidado. Luvas e roupas de proteção são recomendadas. Ao realizar a manutenção e procedimentos para solução de problemas no analisador, também use proteção para os olhos.

## MANIPULAÇÃO DA AMOSTRA

A correta manipulação da amostra é fundamental para garantir que o resultado obtido seja preciso.

É recomendável o uso de EPI's (jaleco manga longo com punho, óculos de proteção, luvas descartáveis, máscaras, entre outros) a fim de reduzir ou eliminar a exposição individual a agentes potencialmente infecciosos.

## INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

### Etapa 1 - Preparação do Reagente

#### 1- Antes de iniciar o teste

- As amostras permanecem estáveis à temperatura ambiente (15–25 ° C).
- O Buffer AVE deve estar a 70 °C para eluição no item 10 da etapa 3.
- Verifique se o Buffer AW1 e o Buffer AW2 foram preparados de acordo com o item, "RELAÇÃO DE COMPONENTES DO PRODUTO", Nota 3.
- Adicione o RNA transportador reconstituído no Buffer AVE conforme o item "RELAÇÃO DE COMPONENTES DO PRODUTO", Nota 4 e "PREPARAÇÃO DOS REAGENTES", tabela 3, ao Buffer AVL de acordo com as instruções abaixo.

#### 2- Adição do RNA Transportador (RNA + AVE) ao Buffer AVL

Verifique se há precipitação no Buffer AVL e, se necessário, incubar a 70°C até que o precipitado seja dissolvido. Misture delicadamente invertendo o tubo 10 vezes, para evitar a formação de espuma. O volume da mistura de RNA Transportador e Buffer AVL necessário por lote de amostras a serem processadas simultaneamente, estão demonstradas na tabela abaixo.

Para um número maior de 10 amostras, os volumes podem ser calculados usando a seguinte equação:

$$n \times 0,4 \text{ mL} = y \text{ mL};$$

$$y \text{ mL} \times 4\mu\text{L} / \text{mL} = z \mu\text{L}$$

Onde: n = número de amostras a serem processadas simultaneamente

y = volume calculado de Buffer AVL

z = volume do RNA transportador + Buffer AVE para adicionar ao Buffer AVL

| Nº de amostras | Buffer AVL (mL) | RNA Transportador +AVE µL |
|----------------|-----------------|---------------------------|
| 1              | 0,4             | 4                         |
| 2              | 0,8             | 8                         |
| 3              | 1,2             | 12                        |
| 4              | 1,6             | 16                        |
| 5              | 2               | 20                        |
| 6              | 2,4             | 24                        |
| 7              | 2,8             | 28                        |
| 8              | 3,2             | 32                        |
| 9              | 3,6             | 36                        |
| 10             | 4               | 40                        |

#### Notas:

- 1) A solução Buffer RNA Transportador + AVL deve ser preparado no momento de uso, e é estável de 2°C a 8°C por até 48 horas;
- 2) Esta solução desenvolve um precipitado quando armazenado a 2-8°C, que deve ser dissolvida por aquecimento a 70°C antes do uso;
- 3) Não aquecer esta solução por mais de seis vezes; e
- 4) Não aquecer a 70°C por mais de 5 minutos.

5) Aquecimento freqüente e incubação prolongada provoca degradação do RNA Transportador, levando à redução da extração do RNA viral e eventualmente resultados falso negativo em RT-PCR.

### Etapa 2 – Processamento da Amostra

As amostras de sangue total, soro e plasma não precisam de tratamento prévio. As amostras de swab devem ser bem agitadas, antes do uso. Caso seja necessário armazenar as amostras por longo período, a solução deve ser transferida para um tubo de centrifuga de 1,5mL e armazenada de - 20 °C a - 70 °C.

### Etapa 3 – Procedimentos Operacionais

- 1- Pipete 400 µL do Buffer AVL contendo RNA Transportador para um tubo de microcentrifuga de 1,5 ml.
- 2- Adicione 200 µL de amostra e 20 µL de Protease K ao Buffer AVL contendo RNA Transportador no tubo da microcentrifuga. Misturar no vórtex por 15 segundos.

**Nota:** Para garantir uma lise eficiente, é essencial que a amostra seja bem misturada com o Buffer AVL para obter uma homogeneidade da solução. Amostras congeladas que foram descongeladas apenas uma vez também podem ser usadas.

- 3- Incubar a 70 °C em banho de metal por 10 min.

**Nota:** A lise de partículas virais é concluída após 10 minutos a 70 °C. Tempos de incubação mais longos não afetam o rendimento ou qualidade do RNA purificado.

- 4- Centrifugue brevemente o tubo para não ficar gotas do interior da tampa.
- 5- Adicione 500 µL de etanol anidro à amostra e misture no vórtex por 15 segundos. Após a mistura, centrifugue brevemente o tubo para remover gotas de dentro da tampa.

**Nota:** Use apenas etanol anidro, pois outros álcoois podem resultar redução em pureza e rendimento de RNA. Não use álcool desnaturado, que contém outras substâncias como metanol ou metil etil cetona. Para garantir uma ligação eficiente, é essencial que a amostra seja misturada com o etanol para produzir uma solução homogênea.

- 6- Aplique cuidadosamente 550 µL da solução do item 5, da etapa 3, na Coluna de Centrifugação (em um tubo de coleta de 2 ml) sem molhar o aro. Feche a tampa e centrifugue a 8000 rpm por 1 minuto e descarte o filtrado. Abra cuidadosamente a coluna, repita este passo mais uma vez.

**Nota:** Feche cada coluna de centrifugação para evitar contaminação cruzada durante a centrifugação. A centrifugação é realizada a 8000 rpm para limitar o ruído da microcentrifuga. A centrifugação com maior velocidade não afeta o rendimento ou a pureza do RNA viral. Se a solução não passou completamente pela membrana, centrifugue novamente a uma velocidade mais alta até que toda a solução tenha passado.

- 7- Abra cuidadosamente a coluna e adicione 500 µL de Buffer AW1 . Feche a tampa e centrifugue a 8000 rpm por 1 min e descarte o filtrado.
- 8- Abra cuidadosamente a coluna e adicione 500 µL de Buffer AW2 . Feche a tampa e centrifugue a 8000 rpm por 1 min e descarte o filtrado. Abra cuidadosamente a coluna, repita esta etapa mais uma vez.

- 9- Centrifugue a coluna em velocidade máxima 14.000 rpm por 30 segundos para eliminar possível transferência do Buffer AW2, e coloque a coluna em um novo tubo de centrifuga de 1,5 ml.

**Nota:** O Buffer residual AW2 no eluato pode causar problemas em aplicações a jusante. Alguns rotores de centrifuga em contato com a coluna contendo o Buffer AW2, podem vibrar com a desaceleração, resultando em fluxo contínuo. A remoção da coluna e do tubo do rotor também pode fazer com que o fluxo entre em contato com a coluna.

- 10- Coloque a coluna em um tubo de microcentrifuga limpo de 1,5 ml. Descarte o tubo anterior contendo o filtrado. Abra cuidadosamente a coluna e adicione 60 µL do Buffer AVE pré-aquecido a 70 °C no centro da coluna. Feche a tampa, e incube em temperatura ambiente por 1 min.
- 11- Centrifugar a 8000 rpm por 1 min. O filtrado é o ácido nucleico extraído, que pode ser detectado diretamente por PCR ou armazenado a -20 °C.

**Nota:** Uma única eluição com 60 µl de Buffer AVE é suficiente para eluir pelo menos 90% do ácido nucleico da coluna de centrifugação. A realização de uma eluição dupla usando 2 x 40 µL de tampão AVE aumentará o rendimento em até 10%. Eluição com volumes menores de 30 µl levará a rendimentos reduzidos e não aumentará a concentração final de ácido nucleico no eluato. O ácido nucleico eluído é estável por até um ano quando armazenado a -20 °C ou a -70 °C.

## EXAME DE ENSAIO

Deteção de pureza de ácidos nucleicos pela razão de absorvância OD 260 / DO 280 .

A proporção é menor que 1,4, indicando que há mais impurezas protéicas.

## LIMITAÇÃO DO MÉTODO

O ácido nucleico não pode ser extraído de pontos de sangue seco ou coágulos sanguíneos.

## ESPECIFICAÇÕES DE DESMPENHO

1. Pureza do ácido nucleico: razão de absorvância OD 260 / DO 280 ≥ 1,4;
2. Precisão: com o reagente de amplificação por PCR, o valor CV de Ct é ≤ 5% (n = 5).

## TRANSPORTE

O Kit de Extração e Purificação de Ácidos Nucleicos não é afetado pelo transporte desde que o mesmo seja entregue ao destinatário seguindo as condições de temperatura e condições de armazenamento.

## DESCARTE

Para o descarte seguro dos reagentes e amostras, seguir as regulamentações normativas locais, estaduais e federais.

## PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

1. Leia atentamente essa instruções uso e realize o procedimento de acordo com o descrito.
2. O Buffer AVL, Buffer AW1 contém sais de guanidina, que podem formar

compostos altamente reativos quando combinados com alvejante. Se derramar líquido contendo esses tampões, limpe com um detergente de laboratório adequado e água. O líquido derramado poderá conter agentes potencialmente infecciosos, limpe a área afetada primeiro com detergente de laboratório e água, depois com hipoclorito de sódio a 1% (v / v). CUIDADO: NÃO adicione alvejantes ou soluções ácidas diretamente à amostra ou resíduos da preparação.

- Após a adição de etanol anidro ao Buffer AW1 e AW2, é necessário misturá-los bem, caso contrário, isso afetará a produção e repetibilidade do experimento. Aperte a tampa após o experimento para evitar volatilização do etanol.
- O ácido nucleico purificado é adequado para PCR, Southern blotting, RAPD, AFLP e outros experimentos com agentes biológicos moleculares.
- As amostras de RNA devem ser coletadas em recipientes plásticos estéreis sem RNase se possível; recipientes de vidro ou plástico não descartáveis devem ser tratados com antecedência para garantir que não haja contaminação pelo RNase.
- As etapas do processo devem ser realizadas no gabinete de biossegurança ou em outras instalações básicas de proteção.
- Consulte a tabela abaixo para possíveis problemas e métodos de manuseio no processo de extração e detecção de ácidos nucleicos.

| Exemplo                 | Possíveis causas                                   | Recomendações  |
|-------------------------|--|--|
| Baixa quantidade de RNA | Degradação do RNA                                  | Garantir o armazenamento e transporte adequados das amostras; as amostras após a coleta devem ser testadas imediatamente.  |
|                         | Cristalização e recipitação de reagentes           | O kit deve ser armazenado à temperatura ambiente (8-25°C); se o componente reagente for encontrado cristalizado, ele deve ser dissolvido em um banho de metal com temperatura constante 70°C. Não aquecer até ferver, não aquecer em espaço confinado. |
| Má detecção de RNA      | O volume da amostra ou PCR modelo é muito ou pouco | Ajuste apropriado do uso da amostra ou adição de modelo de PCR;  |
|                         | Degradação de RNA purificado                       | O RNA purificado deve ser detectado o mais rápido possível.  |

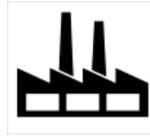
Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas através de solicitação pelo SAC (Serviço de Atendimento ao Cliente) da GoldMed Importação de Produtos Hospitalares Ltda.

### INFORMAÇÕES AO CONSUMIDOR / TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA

A GoldMed Importação de Produtos Hospitalares Ltda garante a boa qualidade do produto, desde que os cuidados de armazenamento indicado nos rótulos e nesta instrução de uso sejam seguidos corretamente.

Em caso de problemas com o produto, o cliente deverá entrar em contato com o SAC (Serviço de Atendimento ao Cliente) da GoldMed Importação de Produtos Hospitalares Ltda.

### FABRICANTE E IMPORTADOR



#### Fabricado por:

Shanghai Fosun Long March Medical Science Co., Ltd  
No.830, Chengyin Rd, Baoshan District, Shanghai,  
PEOPLE'S REPUBLIC OF CHINA.

#### Importado e Distribuído por:

GoldMed Importação de Produtos Hospitalares Ltda.

CNPJ: 28.215.470/0001-91

Avenida Barão Homem de Melo, 4500, Salas 1122/1123

Estoril - CEP: 30.494 270 - Belo Horizonte – MG / Brasil

Site: [www.goldmedimport.com.br](http://www.goldmedimport.com.br)

**Responsável Técnico:** Teresinha de Fátima Póvoa CRF-MG 5120

**Serviço de Atendimento ao Cliente (SAC):** (31) 2531 0619

**E-mail:** [sac@goldmedimport.com.br](mailto:sac@goldmedimport.com.br)

**Registro Nº:** MS 81606090041

**Código:** GM 0003

**Data:** 08/05/2020

**Revisão:** 01

### SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS PRODUTOS DIAGNÓSTICOS DE USO *IN VITRO*

|  |                                       |
|--|---------------------------------------|
|  | Conteúdo suficiente para < n > testes |
|  | Número do lote                        |
|  | Data limite de utilização (mm/aaaa)   |
|  | Data de Fabricação                    |
|  | Fabricado por                         |
|  | Número do catálogo                    |
|  | Produto diagnóstico <i>in vitro</i>   |
|  | Consultar instrução de uso            |
|  | Representante Autorizado              |
|  | Limite de temperatura (conservar a)   |
|  | Uso único                             |