

MANUAL DO USUÁRIO

KIT DE EXTRAÇÃO DE ÁCIDO NUCLEICO (MÉTODO DE ESFERAS MAGNÉTICAS) CH-04



Hospitalar
A vida pede a gente realiza

1. PRODUTO

Kit de Extração de Ácido Nucleico (Método de Esferas Magnéticas)

2. ESPECIFICAÇÃO

CH-04: 8 Testes/Kit; 16 Testes/Kit; 32 Testes/Kit; 64 Testes/Kit.

3. FINALIDADE

Destina-se às etapas de extração, enriquecimento, purificação, entre outras, de ácidos nucleicos. Os produtos processados são utilizados em diagnósticos clínicos *in vitro*. A composição do produto não contém componentes como antígenos, anticorpos e sondas que possam se ligar especificamente às amostras.

4. PRINCÍPIO DO TESTE

Este kit utiliza um sistema exclusivo de esferas magnéticas e tampões com função de separação para extrair DNA e RNA das amostras de forma rápida e com alta sensibilidade. Por meio de componentes de lise altamente eficientes, as proteínas são dissolvidas e os ácidos nucleicos são liberados no sistema de tampão. São adicionadas esferas magnéticas com revestimento especial, que possuem alta afinidade pelos ácidos nucleicos-alvo no sistema de tampão. Quando as condições são alteradas, as esferas magnéticas liberam os ácidos nucleicos adsorvidos. O sistema de lavagem é capaz de remover proteínas, pequenas moléculas e outras impurezas presentes na solução, cumprindo o propósito de separação e purificação rápida dos ácidos nucleicos, sem a utilização de reagentes tóxicos como o clorofórmio.

5. COMPONENTES

Aqui está a continuação da tradução técnica para o seu manual do usuário em português, abrangendo a tabela de componentes e a nota abaixo dela:

Componentes do Kit	8 T/Kit	16 T/Kit	32 T/Kit	64 T/Kit	Principais Componentes
Placas Pré-ensadas	4 T × 2 placas	8 T × 2 placas	16 T × 2 placas	16 T × 4 placas	Lise I: Solução de sal de guanidina, Surfactante Solução de lavagem I: Solução salina Solução de lavagem II: Solução alcoólica Solução de lavagem III: Solução alcoólica Tampão de eluição: ddH ₂ O Esferas Magnéticas: Esferas Magnéticas
Lise II	200 µL	380 µL	700 µL	1,4 mL	Proteinase K
Capa da barra magnética	1 un. × 2 barras	1 un. × 2 barras	2 un. × 2 barras	4 un. × 2 barras	/

Nota: É proibido o uso cruzado de reagentes com números de lote diferentes.

6. ARMAZENAMENTO E VALIDADE

A Solução de Lise B deve ser armazenada entre 2 e 8 °C e os demais componentes devem ser mantidos selados à temperatura ambiente. O kit fechado possui vida útil (prazo de validade) de 12 meses.

Nota: Consulte o rótulo do produto para verificar a data de fabricação e a data de validade.

7. INSTRUMENTOS APLICÁVEIS

Aplicável aos extratores de ácido nucleico BNP32 e BNP48 fabricados pela BIOBASE Holding Group Co., Ltd.

8. REQUISITOS DA AMOSTRA

Tipos de espécimes aplicáveis: swabs (esfregaços), saliva, soro, plasma, sangue total, escarro, lavado broncoalveolar, linfa, fluidos corporais livres de células, sobrenadante de cultura celular, urina, fezes, etc.

Coleta de amostras:

- **Soro** — Colete 2 mL de sangue venoso e injete em um tubo de coleta de sangue seco e estéril. É proibido o uso de tubos de coleta que contenham heparina sódica ou outros anticoagulantes. Deixe em repouso à temperatura ambiente (20 a 25 °C) por 30 a 60 minutos. A amostra de sangue pode aglutinar espontaneamente e precipitar o soro. Alternativamente, utilize uma centrífuga horizontal a 3.000 r/min

por 5 minutos; aspire a camada superior de soro e transfira para um tubo de centrifugação estéril e livre de RNase para armazenamento.

- **Plasma** — Colete 2 mL de sangue venoso e injete em um tubo de coleta contendo anticoagulante EDTA ou citrato de sódio. Agite o tubo de coleta imediatamente e inverta de 5 a 10 vezes para misturar completamente o anticoagulante e o sangue venoso. O plasma pode ser separado após 5 a 10 minutos. Transfira para um tubo de centrifugação estéril e livre de RNase para armazenamento.
- **Sangue total** — Colete 2 mL de sangue venoso, injete em um tubo de coleta contendo anticoagulante EDTA ou citrato de sódio, agite imediatamente e com cuidado o tubo de coleta de 5 a 10 vezes para misturar completamente o anticoagulante com o sangue venoso, e transfira para um tubo de centrifugação estéril e livre de RNase para armazenamento.

A coleta de amostras de swab, saliva, escarro, lavado broncoalveolar, linfa, fluidos corporais livres de células e sobrenadantes de cultura celular deve seguir os métodos comuns de coleta de amostras médicas, sendo armazenada em tubos de centrifugação estéreis e livres de RNase para a extração.

Espécimes não líquidos que contenham patógenos podem ser liquefeitos e extraídos como espécimes líquidos utilizando este kit.

Aqui está a tradução técnica do trecho para o seu manual em português:

Preservação e transporte de amostras: A amostra coletada pode ser utilizada para extração de ácido nucleico imediatamente, ou armazenada entre 2 e 8 °C (por menos de 24 horas), a -20 ± 5 °C (por menos de 3 meses) ou a -70 °C para preservação a longo prazo. Evite ciclos de congelamento e descongelamento. As amostras devem ser transportadas em caixas térmicas seladas ou caixas de isopor com gelo vedadas.

9. PROCESSAMENTO DA AMOSTRA

1. Pré-tratamento de amostras de secreção: Coloque as amostras de swab em solução salina fisiológica ou solução de preservação de amostras, misture em vórtex e separe os patógenos e as células contendo patógenos aderidos ao swab, que serão utilizados para a extração de ácido nucleico.

2. Pré-tratamento de amostras de escarro: Adicione de 4 a 5 vezes o volume de solução salina fisiológica ou solução de NaOH a 4% ao escarro, agite bem e deixe em repouso à temperatura ambiente por 30 minutos para liquefazer completamente. Transfira de 1 mL a 1,5 mL para tubos eppendorf (EP), centrifugue a 13.000 r/min por 5 minutos, descarte cuidadosamente 800 µL do sobrenadante e homogeneíze os 200 µL restantes para a extração de ácido nucleico.

3. Pré-tratamento de lavado broncoalveolar: Colete 1 mL de lavado broncoalveolar e adicione a um tubo eppendorf (EP) de 1,5 mL. Centrifugue a 13.000 r/min por 5 minutos, descarte cuidadosamente 800 µL do sobrenadante e homogeneíze os 200 µL restantes para a extração de ácido nucleico.

10. MÉTODO DO TESTE

1. Preparações antes do experimento: Após retirar a placa de poços profundos (*deep well plate*) do kit, agite-a suavemente 2 a 3 vezes para remover o líquido aderido às paredes dos poços e à película de alumínio,

fazendo-o escorrer para o fundo da placa. Remova cuidadosamente a membrana de vedação de folha de alumínio da placa de 96 poços para evitar o derramamento de líquido.

Na placa de reagentes 1 (Lise I), adicione 200 µL da amostra e 20 µL da Lise II (nota: execute o programa no equipamento dentro de 1 hora após a adição da amostra). Coloque a placa de reagentes na posição correta do equipamento e insira a capa da barra magnética (luva de agitação).

2. Configuração do procedimento:

Configuração do procedimento (Programa EX-1, Programa Padrão)

N°	Posição	Nome	Tempo de espera (S)	Tempo de mistura (M)	Tempo de sucção magnética (S)	Velocidade de mistura	Volume (µL)	Temp. de Lise (°C)	Temp. de Eluição (°C)
1	4	Ligação (Bind)	0	1:00	0:30	Média	310	0	0
2	1	Lise (Lysis)	0	15:00	1:00	Rápida	820	70	0
3	2	Lavagem (Wash)	0	1:00	0:30	Rápida	600	0	0
4	3	Lavagem (Wash)	0	1:00	0:30	Média	600	0	0
5	6	Lavagem (Wash)	0	1:00	0:30	Rápida	600	0	0
6	5	Eluição (Elution)	120	3:00	1:00	Média	100	0	70
7	3	Esfera (Bead)	0	0:30	0:00	Média	600	0	0

Configuração do procedimento (Programa EX-2, Programa Padrão)

N°	Posição	Nome	Tempo de espera (S)	Tempo de mistura (M)	Tempo de sucção magnética (S)	Velocidade de mistura	Volume (µL)	Temp. de Lise (°C)	Temp. de Eluição (°C)
1	4	Ligação (Bind)	0	1:00	0:30	Média	310	0	0
2	1	Lise (Lysis)	0	8:00	0:30	Rápida	820	70	0

3	2	Lavagem (Wash)	0	1:00	0:30	Rápida	600	0	0
4	3	Lavagem (Wash)	0	1:00	0:30	Rápida	600	0	0
5	5	Eluição (Elution)	60	3:00	1:00	Média	100	0	70
6	3	Esfera (Bead)	0	0:30	0:00	Média	600	0	0

Configuração do procedimento (Programa EX-3, Programa Padrão)

Nº	Posição	Nome	Tempo de espera (S)	Tempo de mistura (M)	Tempo de sucção magnética (S)	Velocidade de mistura	Volume (µL)	Temp. de Lise (°C)	Temp. de Eluição (°C)
1	4	Ligação (Bind)	0	1:00	0:30	Média	310	0	0
2	1	Lise (Lysis)	0	4:00	0:30	Rápida	820	70	0
3	3	Lavagem (Wash)	0	1:00	0:30	Rápida	600	0	0
4	5	Eluição (Elution)	0	1:00	0:30	Média	100	0	70
5	3	Esfera (Bead)	0	1:00	0:00	Média	600	0	0

Após a conclusão da execução do programa, remova a capa da barra magnética (luva de agitação) e descarte-a. Retire a placa de reagentes e aspire a solução de eluição dos poços localizados nas colunas 5 e 11. Armazene-a em um novo tubo eppendorf (EP) (estéril e livre de contaminação por RNase).

Esta será a solução de ácido nucleico. Se os experimentos subsequentes (*downstream*) não puderem ser realizados prontamente, ela poderá ser congelada e armazenada a -20 °C ou -80 °C.

11. LIMITAÇÕES DO TESTE

Os resultados dos testes das amostras estão diretamente relacionados à qualidade da coleta, processamento e preservação das mesmas, e qualquer erro nestas etapas resultará em resultados imprecisos. Se a contaminação cruzada não for devidamente controlada durante a operação, poderão ocorrer resultados falso-positivos.

12. INDICES DE DESEMPENHO DO PRODUTO

1. Exatidão

O resultado do teste do extrato de referência de ácido nucleico positivo deve ser positivo, e o teste do extrato de referência de ácido nucleico negativo deve ser negativo.

2. Precisão

A precisão intraensaio deve apresentar um coeficiente de variação (CV, %) do valor de Ct $\leq 5\%$. A precisão entre lotes (interensaio) deve apresentar um coeficiente de variação (CV, %) do valor de Ct $\leq 5\%$.

13. ADVERTÊNCIAS

1. Ao retirar o kit do ambiente refrigerado, recomenda-se deixá-lo em repouso à temperatura ambiente por 10 minutos antes de iniciar o experimento.
2. Como as amostras testadas podem conter patógenos, embora geralmente não haja contaminação biológica após a lise, elas ainda devem ser tratadas como potencialmente contaminadas biologicamente, e diversas medidas de proteção devem ser preparadas antes da operação.
3. Para evitar a contaminação dos reagentes, atente-se ao uso de ponteiros de pipeta e tubos de centrifugação livres de RNase. Os operadores devem usar luvas de camada dupla e máscaras de três camadas, trocando-as frequentemente e reduzindo a circulação de pessoas no ambiente interno.
4. Utilize tubos de centrifugação, pipetas, ponteiros (*tips*), reagentes e luvas que não contenham DNA e RNase, e a equipe deve obrigatoriamente usar máscaras durante a operação.
5. A amostra deve ser completamente homogeneizada antes do uso.
6. A Lise II deve ser completamente homogeneizada antes do uso.

14. REFERÊNCIAS

- [1] Hourfar, M. K., et al. "High-Throughput Purification of Viral RNA Based on Novel Aqueous Chemistry for Nucleic Acid Isolation." *Clin Chem* 51 7 (2005): 1217-22.
- [2] Poeckh, T., et al. "Adsorption and Elution Characteristics of Nucleic Acids on Silica Surfaces and Their Use in Designing a Miniaturized Purification Unit." *Anal Biochem* 373 2 (2008): 253-62.

15. SÍMBOLOS

	For in vitro diagnostic use only		Manufacturer
	Consult instructions for use		Temperature limit
	ExpireDate		Fear of rain
	Lot Number		Catalog #
	Keep away from sunlight		Caution! Potential Biohazard
	The product meets the basic requirements of European in vitro diagnostic medical devices directive 98/79/EC		

For in vitro diagnostic use only	Apenas para uso em diagnóstico <i>in vitro</i>
Consult instructions for use	Consulte as instruções de uso
Expire Date	Data de validade
Lot Number	Número do lote
Keep away from sunlight	Manter afastado da luz solar / Proteger da luz solar
Manufacturer	Fabricante
Temperature limit	Limite de temperatura
Fear of rain	Proteger da chuva / Manter seco
Catalog #	Número de catálogo
Caution! Potential Biohazard	Atenção! Risco biológico potencial
The product meets the basic requirements of European in vitro diagnostic medical devices directive 98/79/EC	O produto cumpre os requisitos essenciais da Diretiva Europeia 98/79/CE relativa a dispositivos médicos de diagnóstico <i>in vitro</i>

FABRICANTE

Shandong Bohong Gene Technology Co., Ltd.

End.: 1º andar do Edifício 2, Sede da BIOBASE, ao norte da 7th Road de Gangyuan e a oeste de Rua Gangxingyuan, Zona de Livre Comércio Piloto de Jinan, Província de Shandong, RPC.

Web: www.biobase.cc/www.meihuatrade.com/www.biobase.com

DISTRIBUIDOR

C&G COMERCIO ATACADISTA HOSPITALAR LTDA

Pc Antonino Carosella, 125, Jardim Botânico, Ribeirão Preto, CEP: 14.021-636

Tel: +55 16 9 99418-2242

E-mail: comercial@cgsaude.com.br

Web: <https://cgsaude.com.br/>