

## BioFast Reagente de extração rápida de DNA

Referência: BRF01R100

Reagente para extração rápida de DNA de culturas bacterianas em meio líquido ou sólido.  
100 mL

O reagente BioFast (Reagente de extração rápida de DNA) é um produto que contém todos os reagentes necessários para a extração de DNA a partir de culturas bacterianas em meio líquido ou sólido. O reagente fornece um ambiente de pH estável que é favorável para a estabilidade do DNA, contém substâncias que ajudam a inibir a atividade de nucleases, protegendo o DNA contra a degradação enzimática, e ajudam a preservar a integridade do material genético durante o armazenamento a longo prazo em temperaturas baixas de -20°C ou -80°C. A extração de DNA por lise térmica é um método simples e eficaz para liberar o material genético das células. O processo envolve a quebra das membranas celulares por meio do calor, seguido pela liberação e isolamento do DNA.

### Composição do reagente

Componente	Composição	Quantidade
BioFast	Mistura otimizada de compostos inorgânicos para extração térmica de DNA bacteriano.	1 tubo; 100mL

### Condições de Armazenamento

- Este produto é transportado a temperatura ambiente, não afetando o desempenho do produto.
- Mantenha o reagente protegido da luz, em local arejado e entre 15°C e 30°C.

### Informações de segurança

- Quando trabalhar com produtos químicos use jaleco, luvas e óculos de proteção adequados.
- Todos os resíduos de amostra e os objetos que estiveram em contato com os mesmos devem ser descontaminados ou eliminados como material potencialmente infeccioso.
- Pode causar irritação na pele e olhos. Em caso de acidente, lavar em água corrente.

### Equipamentos e insumos que devem ser fornecidos pelo usuário

- Equipamentos:** Micropipetas calibradas de volume variável (0,5µL a 1000µL), centrífuga de tubos, homogeneizador de tubos tipo *vortex*, raque para microtubos e termobloco, banho-maria ou termociclador.
- Insumos:** Ponteiras com barreira, microtubos e luvas de procedimento sem talco.

### Avisos e precauções

- Não utilizar se a embalagem estiver danificada.
- Evitar a exposição à luz.
- Não utilizar o reagente após a data de validade.
- Não misturar os reagentes de diferentes lotes.
- Utilizar plásticos livres de nucleases.
- Todas as instruções devem ser lidas antes de realizar o teste e estritamente seguidas.

### Suporte técnico

Para maiores informações e assistência técnica, entre em contato com o Suporte Técnico pelo e-mail [biorise@biorise.com.br](mailto: biorise@biorise.com.br), site [biorise.com.br](http:// biorise.com.br) ou telefone (45) 99858-0038.

### Histórico de revisões

Manual de uso	Data	Versão	Modificações
MU-EXF001	03/2024	V01	Primeira versão

*Nota: pequenas alterações tipográficas, gramaticais e de formatação não são incluídas no histórico de revisões.*

## Procedimento de Uso

### A. Extração de DNA bacteriano

Para a extração rápida do DNA de culturas bacterianas em diferentes matrizes utilizando o reagente BioFast, siga as recomendações descritas na tabela abaixo.

Tipo de amostra	Procedimento
Amostra enriquecida em meio de cultura líquido <sup>1</sup>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Realize o procedimento de enriquecimento da amostra estabelecido em seu laboratório.</li> <li>2. Adicione 500 µL da amostra enriquecida em meio de cultura líquido<sup>1</sup> em um microtubo de 1,5 mL.</li> <li>3. Centrifugue por 2 minutos a 10.000 rpm.</li> <li>4. Descarte o sobrenadante com o auxílio de uma micropipeta sem mover o <i>pellet</i> bacteriano formado no fundo do microtubo.</li> <li>5. Adicione 200 µL do reagente BioFast ao microtubo contendo o <i>pellet</i> bacteriano.</li> <li>6. Dissolva o <i>pellet</i> com o auxílio de um agitador <i>vortex</i>.</li> <li>7. Incube a 95°C por 10 minutos.</li> <li>8. Centrifugue por 2 minutos a 10.000 rpm.</li> <li>9. Utilize o sobrenadante como amostra para a reação de PCR e/ou transfira para um novo microtubo para ser armazenado à -20°C ou -80°C.</li> </ol>
Bactéria isolada crescida em meio de cultura líquido <sup>1</sup> (cultura <i>overnight</i> )	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Realize o procedimento de cultivo bacteriano estabelecido em seu laboratório.</li> <li>2. Adicione 200 µL do reagente BioFast em um microtubo.</li> <li>3. Adicione 20 µL do cultivo bacteriano crescido em meio de cultura líquido<sup>1</sup> ao microtubo contendo o reagente.</li> <li>4. Agite a mistura em agitador <i>vortex</i>.</li> <li>5. Incube a 95°C por 10 minutos.</li> <li>6. Centrifugue por 2 minutos a 10.000 rpm.</li> <li>7. Utilize o sobrenadante como amostra para a reação de PCR e/ou transfira para um novo microtubo para ser armazenado à -20°C ou -80°C.</li> </ol>
Suspensão bacteriana em tampão <sup>2</sup>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Adicione 1 mL da suspensão bacteriana em tampão<sup>2</sup> em um microtubo de 1,5 mL.</li> <li>2. Centrifugue por 2 minutos a 10.000 rpm.</li> <li>3. Descarte o sobrenadante com o auxílio de uma micropipeta sem mover o <i>pellet</i> bacteriano formado no fundo do microtubo.</li> <li>4. Adicione 200 µL do reagente BioFast ao microtubo contendo o <i>pellet</i> bacteriano.</li> <li>5. Dissolva o <i>pellet</i> com o auxílio de um agitador <i>vortex</i>.</li> <li>6. Incube a 95°C por 10 minutos.</li> <li>7. Centrifugue por 2 minutos a 10.000 rpm.</li> <li>8. Utilize o sobrenadante como amostra para a reação de PCR e/ou transfira para um novo microtubo para ser armazenado à -20°C ou -80°C.</li> </ol>

Cultura bacteriana em meio de cultura sólido	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Adicione 500 µL do reagente BioFast em um microtubo.</li> <li>2. Com o auxílio de um suabe estéril colete as colônias bacterianas crescidas sobre a placa e adicione a ponta do suabe ao microtubo contendo o reagente.</li> <li>3. Agite a mistura em agitador <i>vortex</i>.</li> <li>4. Transfira 200 µL para um novo microtubo.</li> <li>5. Incube a 95°C por 10 minutos.</li> <li>6. Centrifugue por 2 minutos a 10.000 rpm.</li> <li>7. Utilize o sobrenadante como amostra para a reação de PCR e/ou transfira para um novo microtubo para ser armazenado à -20°C ou -80°C.</li> </ol>
Colônia bacteriana isolada em meio de cultura sólido	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Adicione 200 µL do reagente BioFast em um microtubo.</li> <li>2. Com o auxílio de uma haste estéril colete as colônias e adicione-as ao microtubo contendo o reagente.</li> <li>3. Agite a mistura em agitador <i>vortex</i>.</li> <li>4. Incube a 95°C por 10 minutos.</li> <li>5. Centrifugue por 2 minutos a 10.000 rpm.</li> <li>6. Utilize o sobrenadante como amostra para a reação de PCR e/ou transfira para um novo microtubo para ser armazenado à -20°C ou -80°C.</li> </ol>

<sup>1</sup> Os meios de cultura líquido em que o procedimento foi validado são os meios BHI (*Brain Heart Infusion*) e Água peptonada.

<sup>2</sup> Os tampões em que o procedimento foi validado são os tampões PBS (solução salina tamponada com fosfato), tampão salino e tampão TE (Tris-EDTA).

**Observação 1:** Outras matrizes, meios de cultura e tampões não descritos neste manual devem ser testados e validados antes da utilização deste método de extração de DNA para fins de pesquisa e diagnóstico.

**Observação 2:** É recomendado testar o limite de detecção de cada ensaio de PCR utilizando este método de extração de DNA nas diferentes matrizes analisadas em seu laboratório.

