

## EXTRAÇÃO DO RNA VIRAL

**ATENÇÃO PARA OS EPI'S NECESSÁRIOS PARA ESSA ETAPA:  
Óculos, máscara cirúrgica, jaleco, luvas**

### ANTES DE COMEÇAR BUSQUE O GELO

- 1- Retirar do freezer os tubos contendo o tampão **AVL com carreador de RNA** e colocar no termobloco para descongelar.
- 2- Agitar no vortex (15s) para dissolver cristais.
- 3- Identificar os tubos de acordo com as orientações do coordenador do dia (número e iniciais do paciente).
- 4- Transferir os tubos para a capela, para a adição das amostras, pela pessoa que está trabalhando nela.
- 5- Após adição das amostras, fechar os tubos e remover a estante da capela.
- 6- Agitar no vortex (15s).
- 7- Remover gotas da tampa dos eppendorfs.
- 8- Incubar à temperatura ambiente por 10 min.
- 1- Adicionar 560 µl de **etanol**.
- 2- Misturar no vortex (15 s).
- 3- Remover gotas da tampa dos eppendorfs.
- 4- Transferir 630 µl da solução anterior para colunas com identificação na tampa (número e iniciais do paciente).
- 5- Centrifugar a 6.000 g, 1 min.
- 6- Descartar o filtrado no **frasco âmbar identificado como lixo químico**.
- 7- Transferir o restante da amostra (630 µl) para a coluna.
- 8- Centrifugar a 6.000 g, 1 min.
- 9- Colocar a coluna em outro tubo e descartar o filtrado **frasco âmbar identificado como lixo químico**.
- 10- Adicionar 500 µl de tampão **AW1** à coluna.
- 11- Centrifugar a 6.000 g, 1 min.
- 12- Colocar a coluna em outro tubo e descartar o filtrado no béquer.
- 13- Adicionar 500 µl de tampão **AW2** à coluna.
- 14- Centrifugar a 20.000 g (ou o máximo da centrífuga), 3 min.
- 15- Descartar o filtrado no béquer e voltar a coluna para o mesmo tubo.
- 16- Centrifugar novamente a 20.000 g, 1 min.
- 17- Colocar a coluna em eppendorfs identificados (número e iniciais do paciente) e descartar o filtrado (no béquer) e o tubo (no béquer com saco plástico).
- 18- Pipetar cuidadosamente, no centro da coluna, 60 µl de tampão **AVE**.
- 19- Fechar a coluna e centrifugar a 6.000 g, 1 min.
- 20- Descartar a coluna (no béquer com saco plástico), **fechar bem os eppendorfs e coloca-los no gelo**.
- 21- Leve a caixa de gelo para a bancada 3.

- 22- Feche o vidro do descarte químico, feche o saco contendo tubos e ponteiros e coloque no lixo embaixo da bancada, descarte o lixo líquido na pia e lave o béquer.
- 23- Limpe a bancada e equipamentos (incluindo pipetas) utilizados.
- 24- Limpe este protocolo.
- 25- Desparamentar e **deixar imediatamente a área de laboratórios.**
- 26- Leve o jaleco para lavar.