

Kit para ADN de sangue HV Mag-Bind® CE DIV

Produto	Preparações
M3292-03CEIVD	96 preparações

Data do manual: Julho de 2023
Número da revisão: v1.1

IVD

Para utilização em diagnóstico in vitro

CE

Kit para ADN de sangue HV Mag-Bind® CE DIV

Índice

Utilização prevista e Utilizador previsto.....	2
Descrição do produto.....	3
Conteúdo do kit/Conservação e estabilidade.....	4
Dispositivos de separação magnética e materiais plásticos.....	4
Preparação dos reagentes.....	5
Controlo de qualidade.....	6
Advertência/Informação de segurança.....	6
Precauções.....	7
Limitações.....	9
Protocolo para 4 mL de sangue total.....	10
Informações de contacto.....	14
Símbolos.....	15
Histórico de revisões.....	17
Avisos e isenções de responsabilidade.....	18

Data do manual: Julho de 2023

Número da revisão: v1.1



Utilização prevista

Para utilização em diagnóstico in vitro.

O Kit para ADN de sangue HV Mag-Bind® CE DIV é destinado ao isolamento e à purificação de ADN genómico proveniente de amostras de sangue total até 4 mL.

O Kit para ADN de sangue HV Mag-Bind® CE DIV utiliza tecnologia baseada em esferas magnéticas e pode ser processado de forma manual ou automatizada na maioria das plataformas de manipulação de líquidos abertas e processadores magnéticos.

Utilizador previsto

Este kit é destinado a uma utilização profissional.

O Kit para ADN de sangue HV Mag-Bind® CE DIV é destinado a uma utilização in vitro e por utilizadores profissionais, tais como funcionários de laboratório, técnicos, investigadores e médicos com qualificação e formação específica em técnicas de biologia molecular e familiarizados com purificação baseada em esferas magnéticas, manual ou automatizada.

Descrição do produto

O Kit para ADN de sangue HV Mag-Bind® CE DIV foi concebido para um isolamento rápido e fiável de ADN genómico de alta qualidade proveniente de amostras de sangue total até 4 mL. As Partículas HV Mag-Bind® proporcionam um tempo de resposta magnética rápido, o que reduz o tempo de processamento global. O sistema combina as propriedades de ligação reversível a ácidos nucleicos das partículas paramagnéticas Mag-Bind® com a eficiência comprovada do sistema de isolamento de ADN da Omega Bio-tek com vista a proporcionar um método rápido e prático para isolar ADN. A utilização de partículas paramagnéticas proporciona ADN de alta qualidade que é adequado para utilização direta na maioria das aplicações a jusante, tais como amplificação e reações enzimáticas. O protocolo para 4 mL de sangue total foi automatizado com êxito no Microlab® STAR™ da Hamilton.

Se estiver a utilizar o Kit para ADN de sangue HV Mag-Bind® CE DIV pela primeira vez, leia este manual na totalidade para se familiarizar com os procedimentos. As amostras são lisadas num sistema de tampões personalizado para amostras de sangue de grande volume. O ADN é isolado a partir dos lisados através da ligação à superfície das partículas paramagnéticas. As partículas paramagnéticas são separadas dos lisados através da utilização de um dispositivo de separação magnética. Depois de alguns passos de lavagem rápidos para remover vestígios de contaminantes, o ADN é eluído em Tampão de eluição.

Uma revisão dos métodos para isolamento e purificação de DNA/RNA é fornecida na seguinte literatura referenciada^{1,2}.

Importante:

1. No caso de automatização deste procedimento num manipulador de líquidos ou processador magnético, entre em contacto com o seu representante da Omega Bio-tek para obter instruções para instrumentos específicos.
2. Os kits incluem reagentes suficientes para o número de preparações especificado mais um excedente de 10% para garantir que existe volume suficiente. Tenha em conta que o número real de preparações poderá ser mais baixo devido ao pré-aliquotamento de reagentes, ao processamento de placas parciais e à plataforma de automatização utilizada, etc.

1 Ali, N., Rampazzo, R., Costa, A., & Krieger, M. A. (2017). Current Nucleic Acid Extraction Methods and Their Implications to Point-of-Care Diagnostics. *BioMed research international*, 2017, 9306564. <https://doi.org/10.1155/2017/9306564>

2 Geciova, J., Bury, D., & Jelen, P. (2002). Methods for disruption of microbial cells for potential use in the dairy industry—a review. *International Dairy Journal*, 12(6), 541-553.

Conteúdo do kit

Produto	M3292-03CEIVD
Purificações	96
Tampão AL	550 mL
Tampão de ligação HDQ	200 mL
Tampão RMP	440 mL
Tampão de eluição	500 mL
Partículas CH Mag-Bind®	35 mL
Solução de proteinase K	45 mL

Conservação e estabilidade

Todos os componentes do Kit para ADN de sangue HV Mag-Bind® CE DIV têm garantia durante, pelo menos, 12 meses a partir da data de compra quando conservados da seguinte forma. A Solução de proteinase K pode ser conservada a temperatura ambiente durante até 12 meses. Para conservação a longo prazo, conserve a Solução de proteinase K a 2–8 °C. Conserve todos os outros componentes às temperaturas recomendadas mencionadas no rótulo do frasco. Assim que o produto for aberto, continue a mantê-lo de acordo com as instruções indicadas no rótulo. Certifique-se de que as tampas são bem apertadas após cada utilização. Durante o envio ou conservação em ambientes frios, poderão formar-se precipitados em alguns tampões. Dissolva esses depósitos aquecendo a solução a 37 °C e agitando delicadamente.

Dispositivos de separação magnética e materiais plásticos

Para o processamento manual das amostras, escolha um dispositivo de separação magnética compatível com os materiais plásticos necessários para este kit.

Para o processamento automatizado das amostras, recomendamos a utilização do XBase24 da Clickbio. O XBase24 combinado com o sistema Mag-Bind® proporciona tempos de magnetização rápidos e a formação ideal de anéis de partículas paramagnéticas para passos de aspiração fáceis e eficientes.

Independentemente do método de processamento ou do dispositivo de separação magnética selecionado, certifique-se de que o dispositivo é compatível com os materiais plásticos necessários para este kit.

Preparação dos reagentes

1. Dilua o Tampão RMP com 560 mL de etanol a 100% e conserve a temperatura ambiente.
2. Dilua o Tampão de ligação HDQ com 800 mL de isopropanol a 100% e conserve a temperatura ambiente.
3. Prepare uma solução de reserva de 400 mL de etanol a 70% e conserve a temperatura ambiente.
4. Agite as Partículas CH Mag-Bind® manualmente ou no vórtex para ressuspender totalmente as partículas antes da utilização. As partículas têm de estar totalmente em suspensão durante a utilização para assegurar uma ligação adequada.

Controlo de qualidade

De acordo com o Sistema de gestão da qualidade da Omega Bio-tek certificado segundo os padrões ISO, todos os reagentes do Kit para ADN de sangue HV Mag-Bind® CE DIV são testados rotineiramente quanto a especificações predeterminadas lote a lote para assegurar a fiabilidade no desempenho e a consistência na qualidade do produto.

Advertências

Este kit é destinado a uma utilização em diagnóstico in vitro.

Leia todas as instruções atentamente antes de utilizar o kit.

Descontamine e elimine todos os materiais potencialmente infecciosos em conformidade com os regulamentos locais, estatais e europeus. Para clientes na União Europeia, tenha em conta que tem a obrigação de notificar incidentes graves que tenham ocorrido em relação ao dispositivo, ao fabricante e à autoridade competente do Estado-Membro em que utilizador e/ou o doente está estabelecido. Para obter qualquer tipo de assistência, entre em contacto com a Omega Bio-tek através do email info@omegabiotek.com.

Se utilizar este kit seguindo um fluxo de trabalho de extração automatizado, a superfície da plataforma automatizada é considerada um perigo biológico. Utilize métodos apropriados de descontaminação e eliminação em conformidade com todos os regulamentos estatais/regionais locais e/ou nacionais aplicáveis.

Informação de segurança

Todos os produtos químicos e materiais biológicos são potencialmente perigosos.

As amostras biológicas tais como plasma, soro, tecidos, fluidos corporais e sangue, entre outros, são potencialmente infecciosos e têm de ser tratados como materiais que apresentam risco biológico. Desempenhe todo o trabalho em instalações devidamente equipadas seguindo precauções universais e utilizando equipamento de proteção individual apropriado tal como luvas descartáveis, batas de laboratório e óculos de proteção, entre outros, conforme exigido por políticas e procedimentos descritos pelas instalações onde trabalha.

Consulte as fichas de dados de segurança (FDS) para obter informações sobre manuseamento, transporte e eliminação de diferentes reagentes incluídos neste kit. As FDS são disponibilizadas em formato PDF na página do produto em www.omegabiotek.com. Elimine todos os resíduos em conformidade com os regulamentos de segurança locais.

Precauções

Alguns dos tampões incluídos no Kit para ADN de sangue HV Mag-Bind® CE DIV contêm agentes caotrópicos baseados em guanidina, os quais podem formar compostos altamente reativos quando combinados com lixívia. **NÃO adicione lixívia nem soluções acídicas** a resíduos de preparação de amostras que contenham guanidina. Aceda às FDS online para obter informações detalhadas sobre os reagentes.

Componente	Descrição
Tampão AL 	Contém: Cloridrato de Guanidina. Aviso! Causa irritação ocular grave. Causa irritação na pele. Perigoso se ingerido. Não coma, beba ou fume ao usar este produto. Lave bem todas as áreas externas expostas do corpo após o manuseio. Use luvas de proteção, roupas de proteção, proteção para os olhos e proteção para o rosto. NOS OLHOS: Enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Remova as lentes de contato, se presentes e fáceis de retirar. Continue enxaguando. Obtenha aconselhamento/atenção médica se a irritação ocular persistir. Tire a roupa contaminada e lave-a antes de reutilizá-la. NA PELE: Lavar com bastante água e sabão. Obtenha aconselhamento/atenção médica se ocorrer irritação ou erupção cutânea. INGESTÃO: Enxaguar a boca. Ligue para um centro de intoxicação ou médico/médico se você se sentir mal.
Solução de proteinase K 	Contém: proteinase K. Perigo! Provoca irritação cutânea ligeira. Quando inalado, pode provocar sintomas de alergia ou de asma ou dificuldades respiratórias. Evitar respirar poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis. Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial. Usar proteção respiratória. Em caso de exposição ou suspeita de exposição: contacte um centro de informação antivenenos ou um médico. Retirar a vítima para uma zona ao ar livre e mantê-la em repouso numa posição que não dificulte a respiração.

Precauções

Componente	Descrição
Tampão de ligação HDQ	Contém: Perclorato de sódio. Perigo! Pode causar danos aos órgãos por exposição repetida ou prolongada. Pode causar incêndio ou explosão; oxidante forte. Perigoso se ingerido. Mantenha longe do calor, superfícies quentes, faíscas, chamas abertas e outras fontes de ignição. Proibido fumar. Mantenha longe de roupas e outros materiais combustíveis. Não respire névoa/vapores/spray. Lave bem todas as áreas externas expostas do corpo após o manuseio. Não coma, beba ou fume ao usar este produto. Use luvas de proteção e roupas de proteção. INGESTÃO: Enxaguar a boca. Ligue para um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico/médico/socorrista se não se sentir bem. SOBRE A ROUPA: Lave imediatamente a roupa e a pele contaminadas com bastante água antes de retirar a roupa. Procure aconselhamento/atenção médica se não se sentir bem. Em caso de incêndio: Use ... para extinguir. Em caso de grande incêndio e grandes quantidades: Evacue a área. Combata o fogo remotamente devido ao risco de explosão.
	
	
	
Tampão RMP	Contém: cloridrato de guanidina. Advertência! Provoca irritação cutânea. Provoca irritação ocular grave. Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial. SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar. Caso a irritação ocular persista, consulte um médico. SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: lavar com sabonete e água abundantes. Em caso de irritação cutânea, consulte um médico. Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar.
	

Limitações

O desempenho do kit foi avaliado através do isolamento de ADN genómico a partir de amostras de 4 mL de sangue total e da determinação da adequabilidade do ADN genómico purificado numa análise direta a jusante através de um método de amplificação padrão. Tenha em conta que o utilizador é responsável por verificar as características de desempenho para qualquer procedimento não abrangido pelos estudos de avaliação do desempenho da Omega Bio-tek. O utilizador é igualmente responsável por estabelecer métricas de desempenho para a respetiva aplicação de diagnóstico a jusante preferida. Têm de ser utilizados controlos apropriados e adequados em qualquer aplicação de diagnóstico a jusante que utilize ADN genómico purificado com o Kit para ADN de sangue HV Mag-Bind® CE DIV.

Kit para ADN de sangue HV Mag-Bind® CE DIV

Protocolo para 4 mL de sangue total

O procedimento que se segue foi otimizado para utilização com amostras de 4 mL de sangue total FRESCO ou CONGELADO.

Importante: no caso de automatização deste procedimento num manipulador de líquidos ou processador magnético, entre em contacto com o seu representante da Omega Bio-tek para obter instruções para instrumentos específicos.

Materiais e equipamentos a serem fornecidos pelo utilizador:

- Dispositivo de separação magnética para tubos de 50 mL
- Bloco de aquecimento, incubador ou banho de água capaz de atingir 70 °C
- Agitador do tipo vórtex
- Tubo de centrifuga de 50 mL compatível com o dispositivo de separação magnética
- Tubo de microcentrifuga para conservação do ADN
- Etanol a 100%
- Etanol a 70%
- Isopropanol a 100%
- Água isenta de nucleases
- Opcional: RNase A (25 mg/mL)
- Opcional: PBS

Antes de começar:

- Prepare o Tampão RMP, o Tampão de ligação HDQ e o etanol a 70% de acordo com a secção "Preparação dos reagentes" na página 5.
- Defina o bloco de aquecimento, incubador ou banho de água para 70 °C.
- Aqueça o Tampão de eluição a 70 °C.

1. Adicione uma amostra de 4 mL de sangue a um tubo de centrifuga de 50 mL (não fornecido). Perfaça o volume de 4 mL com PBS (não fornecido) se o volume de sangue for inferior a 4 mL.
2. Prepare uma mistura principal de Tampão AL e Solução de proteinase K apenas para as amostras a serem extraídas de acordo com a tabela abaixo:

Componente	Quantidade por purificação	Quantidade total por placa de 24 poços
Tampão AL	4,64 mL	122,5 mL*
Solução de proteinase K	320 µL	8,4 mL*

* Foi calculado um volume excedente de 10% para uma placa de 24 poços.

Kit para ADN de sangue HV Mag-Bind® CE DIV

3. Adicione 5 mL da mistura principal de Tampão AL/Solução de proteinase K a cada amostra. Agite no vórtex durante 1 minuto ou carregue e esvazie a pipeta 20 vezes para misturar. Uma mistura eficaz é crucial para um bom rendimento.

Nota: para protocolos automatizados, a mistura com as pontas origina os melhores resultados e é recomendada.

4. Incube a 70 °C durante 30 minutos.
5. Deixe repousar a temperatura ambiente durante 10 minutos para arrefecer.

Opcional: adicione 100 µL de RNase A (25 mg/mL) a cada amostra. Agite no vórtex ou carregue e esvazie a pipeta 20 vezes para misturar. Para protocolos automatizados, a mistura com as pontas origina os melhores resultados e é recomendada.

6. Adicione 6,4 mL de Tampão de ligação HDQ e 160 µL de Partículas CH Mag-Bind®. Agite no vórtex durante 20 minutos para misturar.

Nota:

- O Tampão de ligação HDQ tem de ser diluído com isopropanol a 100% antes da utilização. Consulte a página 5 para obter instruções. O Tampão de ligação HDQ e as Partículas CH Mag-Bind® podem ser preparados como uma mistura principal. Misture apenas o que for necessário para o processamento de imediato.
- Se não for possível a agitação no vórtex constante durante 20 minutos, agite no vórtex durante 30 segundos a cada 2–3 minutos durante 20 minutos.

7. Coloque o tubo num dispositivo de separação magnética para magnetizar as Partículas CH Mag-Bind®. Deixe repousar a temperatura ambiente durante 10 minutos até que todas as Partículas CH Mag-Bind® sejam retiradas da solução.

Nota: o tempo poderá ser aumentado ou diminuído dependendo da força do íman utilizado.

8. Aspire e elimine o sobrenadante limpo. Não destabilize as Partículas CH Mag-Bind®.
9. Retire o tubo do dispositivo de separação magnética.
10. Adicione 1,8 mL de Tampão RMP.

Nota: o Tampão RMP tem de ser diluído com etanol a 100% antes da utilização. Consulte a página 5 para obter instruções.

Kit para ADN de sangue HV Mag-Bind® CE DIV

11. Agite no vórtex durante 1 minuto.

Nota: a ressuspensão completa das Partículas CH Mag-Bind® é crítica para obter uma boa pureza.

12. Coloque o tubo no dispositivo de separação magnética para magnetizar as Partículas CH Mag-Bind®. Deixe repousar a temperatura ambiente até que todas as Partículas CH Mag-Bind® sejam retiradas da solução.
13. Aspire e elimine o sobrenadante limpo. Não destabilize as Partículas CH Mag-Bind®.
14. Retire o tubo do dispositivo de separação magnética.
15. Repita os passos 10–14 para um segundo passo de Tampão RMP.
16. Adicione 2 mL de etanol a 70% (não fornecido).
17. Agite no vórtex durante 1 minuto ou carregue e esvazie a pipeta 20 vezes para misturar.
18. Coloque o tubo no dispositivo de separação magnética para magnetizar as Partículas CH Mag-Bind®. Deixe repousar a temperatura ambiente até que todas as Partículas CH Mag-Bind® sejam retiradas da solução.
19. Aspire e elimine o sobrenadante limpo. Não destabilize as Partículas CH Mag-Bind®.
20. Retire o tubo do dispositivo de separação magnética.
21. Repita os passos 16–20 para um segundo passo de etanol a 70%.
22. Deixe o tubo no dispositivo de separação magnética. Adicione 1 mL de água isenta de nucleases (não fornecida) e aspire de imediato. Não deixe a água isenta de nucleases nas Partículas CH Mag-Bind® durante mais de 60 segundos.

Kit para ADN de sangue HV Mag-Bind® CE DIV

23. Retire o tubo do dispositivo de separação magnética.
24. Adicione 1–3 mL de Tampão de eluição pré-aquecido a 70 °C para eluir o ADN das Partículas CH Mag-Bind®.

Nota: aqueça o Tampão de eluição a 70 °C para melhorar o rendimento.

25. Agite no vórtex durante 5 minutos para misturar.

Nota: se não for possível a agitação no vórtex constante durante 5 minutos, agite no vórtex durante 15 segundos a cada 1–2 minutos durante 5 minutos.

26. Coloque o tubo no dispositivo de separação magnética para magnetizar as Partículas CH Mag-Bind®. Deixe repousar a temperatura ambiente até que todas as Partículas CH Mag-Bind® sejam retiradas da solução.
27. Transfira o sobrenadante limpo que contém o ADN purificado para um tubo de microcentrifuga (não fornecidos). Conserve o ADN a -20 °C.

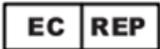
Informações de contacto

Para recomendar produtos, notificar uma falha no dispositivo ou apresentar uma reclamação, queira por favor contactar:

	<p>Fabricante Omega Bio-tek, Inc. 400 Pinnacle Way Suite #450 Norcross, GA 30071, USA Website: www.omegabiotek.com Email: info@omegabiotek.com SRN: US-MF-000024148</p>
	<p>Representante autorizado na Europa Qarad EC-REP BV Pas 257 2440 Geel Belgium SRN: BE-AR-000000040</p>
	<p>Suíça Representante Autorizado Qarad Suisse S.A. World Trade Center Avenue Gratta-Paille 2 1018 Lausanne Switzerland CHRN: CHRN-AR-20002058</p>

Símbolos

Os símbolos que se seguem poderão aparecer nas instruções de utilização ou na embalagem e rótulo:

Imagem	Descrição
	Embalagem danificada (Não utilize se a embalagem estiver danificada)
	Representante autorizado na UE
	Suíça Representante Autorizado
	Data de validade
	Intervalo de temperatura de conservação a longo prazo
	Verifique os componentes relativamente às condições de conservação
	Número de lote
	Referência, número de catálogo ou peça
	Número de série
	Quantidade
	Cuidado
	Instruções de utilização
	Marcação regulamentar
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro

Símbolos



Identificador único do dispositivo



Fabricante



Nenhum perigo adicional ou não classificado como perigoso de acordo com GHS



Website



Telefone



Fax



Email



LinkedIn



Twitter



Facebook

Histórico de revisões

Revisão	Descrição
v1.1, Julho de 2023	Adicionadas informações sobre o Representante Autorizado Suíça
v1.0, dezembro de 2022	Publicação inicial

Avisos e isenções de responsabilidade

REACH Divulgação

Para utilização na União Europeia.

O Tampão AL contém Triton X-100, 2-[4-(2,4,4-trimetilpentano-2-il)fenoxi]etanol (CAS 9002-93-1), uma substância incluída na lista de substâncias sujeitas a autorização europeia (Anexo XIV) do Regulamento (CE) n.º 1907/2006 (REACH). As substâncias e misturas utilizadas para efeitos de investigação científica e desenvolvimento estão isentas dos requisitos de autorização se forem utilizadas abaixo de um volume de 1 tonelada por ano.

Investigação científica e desenvolvimento inclui investigação experimental ou atividades analíticas a uma escala laboratorial tais como síntese e testagem de aplicações de produtos químicos e testes de libertação, entre outros, bem como a utilização da substância na monitorização e controlo de qualidade de rotina ou diagnósticos *in vitro*.

Marcas e Licenças

Mag-Bind®, HiBind®, E.Z.N.A.® e MicroElute® são marcas comerciais registadas da Omega Bio-tek, Inc.

Microlab® STAR™ é uma marca comercial da Hamilton.

PCR é um processo patenteado da Hoffman-La Roche. A utilização do processo PCR requer uma licença.