

## Kit para cfDNA Mag-Bind® CE DIV

Produto	Preparações
M3298-01CEIVD	50 preparações
M3298-02CEIVD	200 preparações

**Data do manual: Julho de 2023**  
**Número da revisão: v1.2**

**IVD**

**Para utilização em diagnóstico in vitro**

**CE**

# Kit para cfDNA Mag-Bind® CE DIV

## Índice

Utilização prevista e utilizador previsto.....	2
Descrição do produto.....	3
Conteúdo do kit/Conservação e estabilidade.....	4
Preparação dos reagentes.....	5
Processo de extração/Controlo de qualidade.....	5
Advertência/Informação de segurança.....	6
Precauções.....	7
Limitações.....	8
Quantificação de cfDNA.....	9
Protocolo para ADN Mag-Bind® para 1 mL de soro/plasma ..	10
Protocolo para ADN Mag-Bind® para 2 mL de soro/plasma ..	14
Protocolo para ADN Mag-Bind® para 4 mL soro/plasma.....	18
Informações de contacto.....	22
Símbolos.....	23
Histórico de revisões.....	25
Avisos e isenções de responsabilidade.....	26

**Data do manual: Julho de 2023**

**Número da revisão: v1.2**



# Utilização prevista

---

Para utilização em diagnóstico in vitro.

O Kit para cfDNA Mag-Bind® CE DIV é destinado ao isolamento e à purificação de ADN livre circulante (cfDNA) a partir de amostras de plasma/soro.

O Kit para cfDNA 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 cfDNA 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 cfDNA Mag-Bind® CE DIV foi concebido para um isolamento rápido e fiável de ADN livre circulante a partir de amostras de 1–4 mL de plasma/soro. O Kit para cfDNA Mag-Bind® CE DIV pode ser processado manualmente com tubos de centrifuga de 15 mL ou em plataformas automatizadas com os materiais plásticos apropriados. O procedimento elimina a necessidade de funis e passos de vácuo, proporcionando uma operação mãos-livres em protocolos automatizados. O tampão de ligação de formulação exclusiva da Omega Bio-tek permite que grandes volumes de amostra sejam processados em formatos automatizados, com 4 mL de soro ou plasma a serem processados numa placa de 24 poços. As propriedades magnéticas das Partículas CH Mag-Bind® permitem uma rápida separação magnética, particularmente durante os passos que envolvem grandes volumes. A capacidade de elevada ligação diminui a quantidade de partículas magnéticas necessárias, reduzindo assim o volume de eluição, ou seja, o cfDNA de 4 mL de soro ou plasma pode ser eluído em apenas 50 µL.

Este sistema combina as propriedades de ligação reversível a ácidos nucleicos das partículas paramagnéticas Mag-Bind® com um sistema de ligação único que visa fragmentos de ADN mais pequenos (150–400 pb) e minimiza a ligação de fragmentos maiores tais como ADN genómico.

O ADN purificado é de alta qualidade e adequado para utilização direta em aplicações a jusante, tais como qPCR e sequenciação de nova geração.

Uma revisão de métodos para isolamento e purificação de DNA/RNA é fornecida na seguinte literatura referenciada<sup>1,2</sup>.

## 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.

**Nota:** utilizando este kit, podem ser processados volumes de amostra até 10 mL. Entre em contacto com o seu representante da Omega Bio-tek para obter detalhes do protocolo.

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	M3298-01CEIVD	M3298-02CEIVD
Purificações	50	200
Tampão DS	20 mL	80 mL
Tampão JSB	9 x 25 mL	4 x 220 mL
Tampão GT7 v1.1	110 mL	2 x 220 mL
Tampão SPW	25 mL	2 x 50 mL
Tampão de eluição	250 mL	2 x 250 mL
Solução de proteinase K	4 mL	14 mL
Partículas CH Mag-Bind®	1,1 mL	4,4 mL

## Conservação e estabilidade

Todos os componentes do Kit para cfDNA 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.

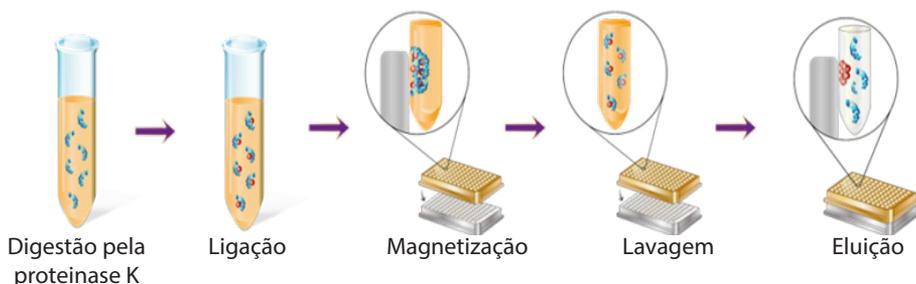
# Preparação dos reagentes

1. Dilua o Tampão SPW com etanol a 100% conforme descrito de seguida e conserve a temperatura ambiente.

Kit	Etanol a 100% a ser adicionado
M3298-01CEIVD	100 mL
M3298-02CEIVD	200 mL por frasco

2. 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.

## Processo de extração



## 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 cfDNA 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](mailto: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](http://www.omegabiotek.com). Elimine todos os resíduos em conformidade com os regulamentos de segurança locais.

# Precauções

Alguns dos tampões incluídos no Kit para cfDNA 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 DS 	Contém: detergente aniónico. Perigo! Provoca lesões oculares graves. Provoca irritação cutânea. Nocivo para os organismos aquáticos. Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial. Evitar a libertação para o ambiente. Em caso de exposição ou suspeita de exposição: contacte um centro de informação antivenenos ou um médico. 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. Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar. SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: lavar com sabonete e água abundantes. Em caso de irritação cutânea, consulte um médico.
Solução de proteínase 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.
Tampão JSB   	Contém: Tiocianato de guanidina e isopropanol. Perigo! Líquido e vapor inflamáveis. Provoca lesões oculares graves. Perigoso se ingerido. Causa irritação na pele. Nocivo para a vida aquática com efeitos duradouros. Manter afastado do calor, superfícies quentes, faíscas, chamas abertas e outras fontes de ignição. Proibido fumar. Mantenha o recipiente bem fechado. Recipiente de terra/ ligação e equipamento de recebimento. Use equipamentos elétricos/de ventilação/iluminação/intrinsecamente seguros à prova de explosão. Use apenas ferramentas que não produzam faíscas. Tome medidas preventivas contra descarga estática. Lave cuidadosamente todas as áreas externas do corpo expostas após o manuseio. Não coma, beba ou fume ao usar este produto. Use luvas de proteção, roupas de proteção, proteção para os olhos e proteção para o rosto. Evitar a libertação para o meio ambiente. EM CASO DE INCÊNDIO: Use espuma resistente ao álcool ou espuma de proteína normal para extinguir. NOS OLHOS: Enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Remova as lentes de contato, se presentes e fáceis de retirar. Continue a enxaguar. Ligue imediatamente para o CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico/médico/socorrista. NA PELE (ou cabelo): Tire imediatamente todas as roupas contaminadas. Enxaguar a pele com água/chuveiro. Lave com bastante água e sabão. Enxágue a boca. Se ocorrer irritação da pele, consulte um médico. Retire as roupas contaminadas e lave-as antes de reutilizá-las.

# Precauções

Componente	Descrição
Tampão GT7 v1.1	Contém: Tiocianato de Guanidina. Perigo! Perigoso se ingerido. Causa queimaduras na pele e lesões oculares graves. Não respire névoa/vapores/spray. Nocivo para a vida aquática com efeitos duradouros. Use roupas de proteção, proteção para os olhos e proteção para o rosto. Lave cuidadosamente todas as áreas externas do corpo expostas após o manuseio. Não coma, beba ou fume ao usar este produto. Evitar a libertação para o meio ambiente. ENGOLIDO: Enxaguar a boca. NÃO induza o vômito. Ligue para um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico/médico/socorrista/se não se sentir bem. NA PELE (ou cabelo): Tire imediatamente todas as roupas contaminadas. Enxaguar a pele com água/chuveiro. Lave as roupas contaminadas antes de reutilizá-las. NOS OLHOS: Enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Remova as lentes de contato, se presentes e fáceis de retirar. Continue a enxaguar. Ligue imediatamente para um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico/médico/socorrista. INALADO: Remova a pessoa para o ar fresco e mantenha-a confortável para respirar.



## Limitações

O desempenho do kit foi avaliado através do isolamento de cfDNA a partir de amostras de 1–10 mL de plasma/soro e da determinação da adequabilidade do cfDNA 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 cfDNA purificado com o Kit para cfDNA Mag-Bind® CE DIV.

# Quantificação

## Orientações para a quantificação de cfDNA

A quantificação de ADN é habitualmente realizada por métodos baseados em espectrofotometria (NanoDrop®) ou fluorometria (Qubit®). Ambos os métodos são inexatos no que diz respeito à quantificação de ADN livre circulante, pois o cfDNA normalmente está presente em baixas quantidades e estes métodos não conseguem distinguir entre cfDNA e ADN genómico celular de elevado peso molecular. É importante estabelecer estratégias exatas não apenas para quantificar precisamente cfDNA, mas também para retirar as conclusões pertinentes sobre a eficiência da extração. Algumas das estratégias que podem auxiliar a quantificação de cfDNA são elucidadas abaixo.

### TapeStation ou Analisador de fragmentos

A determinação do perfil de tamanhos dos fragmentos pode ser utilizada para a quantificação de cfDNA. O cfDNA habitualmente consiste em pequenos fragmentos de ADN com um pico de distribuição de tamanhos em torno de ~170 pb. As alturas e a separação dos picos no eletroferograma correspondentes ao tamanho dos fragmentos de cfDNA e ao tamanho do ADN genómico (gDNA) pode ajudar a esclarecer as proporções relativas de ambos e a retirar conclusões sobre a eficiência da extração de cfDNA. A funcionalidade de análise regional proporcionada pelo software pode dar uma ajuda extra para estimar a concentração de cfDNA. Por exemplo, a concentração de ADN na região de 100–300 pb, onde é mais provável que esteja presente o cfDNA, pode ser quantificada utilizando o software TapeStation através desta funcionalidade.

### qPCR

A quantificação baseada em análise por qPCR é eficaz se os primers visarem apenas a fração de cfDNA e não a fração de gDNA. Caso contrário, os primers vão amplificar ambas as frações de cfDNA e gDNA presentes no eluído, distorcendo os resultados. Por exemplo, a utilização de primers específicos de tumores se o cfDNA for de origem tumoral pode analisar a fração de cfDNA sem interferência do gDNA. Para efeitos de avaliação do kit, a utilização de uma adição tal como ADN bacteriano clivado de 200 pb em plasma/soro juntamente com primers específicos bacterianos pode proporcionar informações sobre a eficiência da extração em termos de cfDNA efetivamente presente no ADN total isolado.

### Análise da integridade do cfDNA

A análise da integridade do cfDNA é realizada através de PCR em tempo real de repetições ALU utilizando dois conjuntos de primers para amplificar diferentes comprimentos de fragmentos de ADN (115 pb e 247 pb). As sequências ALU são altamente abundantes no genoma humano e a amplificação do amplicão ALU de 115 pb representa a quantidade total de fragmentos de ADN (fragmentos curtos e longos), enquanto o amplicão ALU de 247 pb reflete primariamente a quantidade de fragmentos de ADN longos. A integridade do cfDNA pode ser reportada como o índice de integridade, o qual é calculado pela razão entre ALU247 e ALU115. Se o ADN isolado for principalmente gDNA, espera-se que a razão ALU247/ALU115 seja 1. A razão tem um valor entre 0 e 1 se estiverem presentes fragmentos curtos (cfDNA). Normalmente, quanto mais elevada a quantidade de cfDNA na amostra, maior será o índice de integridade.

# Kit para cfDNA Mag-Bind® CE DIV

## Protocolo para 1 mL de soro/plasma

**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 reagentes a serem fornecidos pelo utilizador:

- Etanol a 100%
- Dispositivo de separação magnética para tubos de microcentrifuga de 1,5/2,0 mL
- Incubador capaz de atingir 60 °C
- Agitador rotativo ou basculante para o passo 8
- Agitador do tipo vórtex
- Tubos de centrifuga de 15 mL
- Tubos de microcentrifuga de 1,5 mL compatíveis com o dispositivo de separação magnética utilizado
- Opcional: microplaca para conservação de ADN

### Antes de começar:

- Prepare o Tampão SPW de acordo com a secção “Preparação dos reagentes” na página 5.
- Defina o incubador para 60 °C.
- Agite as Partículas CH Mag-Bind® manualmente ou no vórtex para ressuspender totalmente as partículas antes da utilização.

1. Adicione amostras de 1 mL de soro/plasma a um tubo de centrifuga de 15 mL (não fornecido). Perfaça o volume de 1 mL com Tampão de eluição se o volume da amostra for inferior a 1 mL.
2. Adicione 15 µL de Solução de proteinase K.
3. Adicione 67 µL de Tampão DS.
4. Agite no vórtex à velocidade máxima ou carregue e esvazie a pipeta várias vezes para misturar bem.

## Kit para cfDNA Mag-Bind® CE DIV

5. Incube a 60 °C durante 20 minutos. Misture invertendo ou agitando a cada 10 minutos.
6. Deixe repousar a temperatura ambiente durante 10 minutos.
7. Adicione 1 mL de Tampão JSB. Agite no vórtex à velocidade máxima durante 30 segundos ou carregue e esvazie a pipeta várias vezes para misturar bem.
8. Adicione 5 µL de Partículas CH Mag-Bind®. Inverta a amostra 10 vezes ou carregue e esvazie a pipeta várias vezes para misturar. Deixe repousar durante 10 minutos a temperatura ambiente com agitação contínua. As amostras têm de ser bem misturadas durante o período de incubação de 10 minutos através de agitação rotativa ou basculante. **Não agite no vórtex a altas velocidades**, pois isto provocará a formação de espuma em excesso que pode reduzir o rendimento. A velocidade da agitação deve ser definida de modo a manter continuamente as Partículas CH Mag-Bind® em suspensão na solução.
9. Transfira 1 mL de lisado para um tubo de microcentrífuga de 1,5 mL (não fornecido).
10. Coloque o tubo num 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.
11. Aspire e elimine o sobrenadante limpo. Não destabilize as Partículas CH Mag-Bind®.
12. Transfira o lisado remanescente do passo 8 para o tubo de microcentrífuga de 1,5 mL utilizado nos passos anteriores.
13. Coloque o tubo num 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.
14. Aspire e elimine o sobrenadante limpo. Não destabilize as Partículas CH Mag-Bind®.
15. Retire o tubo que contém as Partículas CH Mag-Bind® do dispositivo de separação magnética.

# Kit para cfDNA Mag-Bind® CE DIV

16. Adicione 500 µL de Tampão GT7 v1.1.

17. Agite no vórtex durante 2 minutos para ressuspender as Partículas CH Mag-Bind®.

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

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®.

**Nota:** o Tampão GT7 v1.1 poderá formar espuma durante a agitação no vórtex. Retire a espuma da tampa e de seguida retire o sobrenadante.

20. Repita os passos 15–19 para um segundo passo de Tampão GT7 v1.1.

21. Retire o tubo que contém as Partículas CH Mag-Bind® do dispositivo de separação magnética.

22. Adicione 500 µL de Tampão SPW.

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

23. Agite no vórtex durante 2 minutos para ressuspender as Partículas CH Mag-Bind®.

24. 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.

25. Aspire e elimine o sobrenadante limpo. Não destabilize as Partículas CH Mag-Bind®.

26. Repita os passos 21–25 para um segundo passo de Tampão SPW.

## Kit para cfDNA Mag-Bind® CE DIV

---

27. Retire o tubo do dispositivo de separação magnética durante aproximadamente 30 segundos.
28. Coloque o tubo no dispositivo de separação magnética para magnetizar as Partículas CH Mag-Bind®.
29. Aspire e elimine o Tampão SPW residual.
30. Deixe o tubo no dispositivo de separação magnética durante 25 minutos para secar as Partículas CH Mag-Bind®.
31. Retire o tubo que contém as Partículas CH Mag-Bind® do dispositivo de separação magnética.
32. Adicione 30–60 µL de Tampão de eluição.
33. Agite no vórtex a temperatura ambiente durante 5 minutos para ressuspender as Partículas CH Mag-Bind®.
34. 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.
35. Transfira o sobrenadante limpo que contém o ADN purificado para um tubo de microcentrifuga de 1,5 mL ou uma microplaca limpa (não fornecidos).
36. Conserve o ADN a -20 °C.

# Kit para cfDNA Mag-Bind® CE DIV

## Protocolo para 2 mL de soro/plasma

**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 reagentes a serem fornecidos pelo utilizador:

- Etanol a 100%
- Dispositivo de separação magnética para tubos de centrifuga de 15 mL e tubos de microcentrifuga de 1,5/2,0 mL
- Incubador capaz de atingir 60 °C
- Agitador rotativo ou basculante para o passo 8
- Agitador do tipo vórtex
- Tubos de centrifuga de 15 mL compatíveis com o dispositivo de separação magnética utilizado
- Tubos de microcentrifuga de 1,5 mL compatíveis com o dispositivo de separação magnética utilizado
- Opcional: microplaca para conservação de ADN

### Antes de começar:

- Prepare o Tampão SPW de acordo com a secção “Preparação dos reagentes” na página 5.
- Definir o incubador para 60 °C.
- Agite as Partículas CH Mag-Bind® manualmente ou no vórtex para ressuspender totalmente as partículas antes da utilização.

1. Adicione amostras de até 2 mL de soro/plasma a um tubo de centrifuga de 15 mL (não fornecido). Perfaça o volume de 2 mL com Tampão de eluição se o volume da amostra for inferior a 2 mL.
2. Adicione 30 µL de Solução de proteinase K.
3. Adicione 135 µL de Tampão DS.
4. Agite no vórtex à velocidade máxima ou carregue e esvazie a pipeta várias vezes para misturar bem.

# Kit para cfDNA Mag-Bind® CE DIV

5. Incube a 60 °C durante 25 minutos. Misture invertendo ou agitando a cada 10 minutos.
6. Deixe repousar a temperatura ambiente durante 10 minutos.
7. Adicione 2 mL de Tampão JSB. Agite no vórtex à velocidade máxima durante 30 segundos ou carregue e esvazie a pipeta várias vezes para misturar bem.
8. Adicione 10 µL de Partículas CH Mag-Bind®. Inverta a amostra 10 vezes ou carregue e esvazie a pipeta várias vezes para misturar. Deixe repousar durante 10 minutos a temperatura ambiente com agitação contínua. As amostras têm de ser bem misturadas durante o período de incubação de 10 minutos através de agitação rotativa ou basculante. **Não agite no vórtex a altas velocidades**, pois isto provocará a formação de espuma em excesso que pode reduzir o rendimento. A velocidade da agitação deve ser definida de modo a manter continuamente as Partículas CH Mag-Bind® em suspensão na solução.
9. Coloque o tubo num 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.
10. Aspire e elimine o sobrenadante limpo. Não destabilize as Partículas CH Mag-Bind®.
11. Retire o tubo que contém as Partículas CH Mag-Bind® do dispositivo de separação magnética.
12. Adicione 1 mL de Tampão GT7 v1.1.
13. Agite no vórtex durante 2 minutos para ressuspender as Partículas CH Mag-Bind®.

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

14. Transfira as Partículas CH Mag-Bind® ressuspensas num novo tubo de centrifuga de 1,5 mL (não fornecido). Utilize um dispositivo de separação magnética concebido para tubos de 1,5/2,0 mL para o que resta do procedimento.

## Kit para cfDNA Mag-Bind® CE DIV

---

15. Coloque o tubo num 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.
16. Aspire e elimine o sobrenadante limpo. Não destabilize as Partículas CH Mag-Bind®.
17. Retire o tubo que contém as Partículas CH Mag-Bind® do dispositivo de separação magnética.
18. Adicione mais 1 mL de Tampão GT7 v1.1.

19. Agite no vórtex durante 2 minutos para ressuspender as Partículas CH Mag-Bind®.

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

20. Coloque o tubo num 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.
21. Aspire e elimine o sobrenadante limpo. Não destabilize as Partículas CH Mag-Bind®.
22. Retire o tubo que contém as Partículas CH Mag-Bind® do dispositivo de separação magnética.
23. Adicione 1 mL de Tampão SPW.

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

24. Agite no vórtex durante 2 minutos para ressuspender as Partículas CH Mag-Bind®.
25. 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.

## Kit para cfDNA Mag-Bind® CE DIV

---

26. Aspire e elimine o sobrenadante limpo. Não destabilize as Partículas CH Mag-Bind®.
27. Repita os passos 22–26 para um segundo passo de Tampão SPW.
28. Retire o tubo do dispositivo de separação magnética durante aproximadamente 30 segundos.
29. Coloque o tubo no dispositivo de separação magnética para magnetizar as Partículas CH Mag-Bind®.
30. Aspire e elimine o Tampão SPW residual.
31. Deixe o tubo no dispositivo de separação magnética durante 25 minutos para secar as Partículas CH Mag-Bind®.
32. Retire o tubo que contém as Partículas CH Mag-Bind® do dispositivo de separação magnética.
33. Adicione 50–100 µL de Tampão de eluição.
34. Agite no vórtex a temperatura ambiente durante 5 minutos para ressuspender as Partículas CH Mag-Bind®.
35. 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.
36. Transfira o sobrenadante limpo que contém o ADN purificado para um tubo de microcentrifuga de 1,5 mL ou uma microplaca limpa (não fornecidos).
37. Conserve o ADN a -20 °C.

# Kit para cfDNA Mag-Bind® CE DIV

## Protocolo para 4 mL de soro/plasma

**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 reagentes a serem fornecidos pelo utilizador:

- Etanol a 100%
- Dispositivo de separação magnética para placas de 24 poços profundos (Magnum FLX®24 da Alpaqua, ref. n.º A000440) ou para tubos de centrifuga de 15 mL e tubos de microcentrifuga de 1,5/2,0 mL
- Incubador capaz de atingir 60 °C
- Agitador rotativo ou basculante para o passo 8
- Agitador do tipo vórtex
- Placa de 24 poços profundos ou tubos de centrifuga de 15 mL compatíveis com o dispositivo de separação magnética utilizado
- Tubos de microcentrifuga de 1,5 mL compatíveis com o dispositivo de separação magnética utilizado
- Opcional: microplaca para conservação de ADN

### Antes de começar:

- Prepare o Tampão SPW de acordo com a secção “Preparação dos reagentes” na página 5.
  - Definir o incubador para 60 °C.
  - Agite as Partículas CH Mag-Bind® manualmente ou no vórtex para ressuspender totalmente as partículas antes da utilização.
1. Adicione amostras de até 4 mL de soro/plasma a um tubo de centrifuga de 15 mL ou a uma placa de 24 poços profundos (não fornecidos). Escolha os materiais plásticos corretos dependendo do dispositivo de separação magnética a ser utilizado. Perfaça o volume de 4 mL com Tampão de eluição se o volume da amostra for inferior a 4 mL.
  2. Adicione 60 µL de Solução de proteinase K.
  3. Adicione 270 µL de Tampão DS.

## Kit para cfDNA Mag-Bind® CE DIV

4. Agite no vórtex à velocidade máxima ou carregue e esvazie a pipeta várias vezes para misturar bem.
5. Incube a 60 °C durante 30 minutos. Misture invertendo ou agitando a cada 10 minutos.
6. Deixe repousar a temperatura ambiente durante 10 minutos.
7. Adicione 4 mL de Tampão JSB. Agite no vórtex à velocidade máxima durante 30 segundos ou carregue e esvazie a pipeta várias vezes para misturar bem.
8. Adicione 20 µL de Partículas CH Mag-Bind®. Inverta a amostra 10 vezes ou carregue e esvazie a pipeta várias vezes para misturar. Deixe repousar durante 10 minutos a temperatura ambiente com agitação contínua. As amostras têm de ser bem misturadas durante o período de incubação de 10 minutos através de agitação rotativa ou basculante. **Não agite no vórtex a altas velocidades**, pois isto provocará a formação de espuma em excesso que pode reduzir o rendimento. A velocidade da agitação deve ser definida de modo a manter continuamente as Partículas CH Mag-Bind® em suspensão na solução.
9. Coloque o tubo/placa num 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.
10. Aspire e elimine o sobrenadante limpo. Não destabilize as Partículas CH Mag-Bind®.
11. Retire o tubo/placa que contém as Partículas CH Mag-Bind® do dispositivo de separação magnética.
12. Adicione 1 mL de Tampão GT7 v1.1.
13. Agite no vórtex durante 5 minutos para ressuspender as Partículas CH Mag-Bind®.

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

## Kit para cfDNA Mag-Bind® CE DIV

14. Transfira as Partículas CH Mag-Bind® ressuspensas num novo tubo de centrífuga de 1,5 mL (não fornecido) se utilizar um tubo de centrífuga de 15 mL para os passos 1–13. Utilize um dispositivo de separação magnética concebido para tubos de 1,5/2,0 mL para o que resta do procedimento. Se utilizar uma placa de 24 poços profundos para os passos 1–13, continue a utilizar a placa de 24 poços profundos e um íman de 24 poços.
15. Coloque o tubo/placa 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.
16. Aspire e elimine o sobrenadante limpo. Não destabilize as Partículas CH Mag-Bind®.
17. Retire o tubo/placa que contém as Partículas CH Mag-Bind® do dispositivo de separação magnética.
18. Adicione mais 1 mL de Tampão GT7 v1.1.
19. Agite no vórtex durante 5 minutos para ressuspender as Partículas CH Mag-Bind®.  
**Nota:** a ressuspensão completa das Partículas CH Mag-Bind® é crítica para obter uma boa pureza.
20. Coloque o tubo/placa 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.
21. Aspire e elimine o sobrenadante limpo. Não destabilize as Partículas CH Mag-Bind®.
22. Retire o tubo/placa que contém as Partículas CH Mag-Bind® do dispositivo de separação magnética.
23. Adicione 1 mL de Tampão SPW.  
**Nota:** o Tampão SPW tem de ser diluído com etanol a 100% antes da utilização. Consulte a página 5 para obter instruções.

24. Agite no vórtex durante 5 minutos para ressuspender as Partículas CH Mag-Bind®.

## Kit para cfDNA Mag-Bind® CE DIV

---

25. Coloque o tubo/placa 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.
26. Aspire e elimine o sobrenadante limpo. Não destabilize as Partículas CH Mag-Bind®.
27. Repita os passos 22–26 para um segundo passo de Tampão SPW.
28. Retire o tubo/placa do dispositivo de separação magnética durante aproximadamente 30 segundos.
29. Coloque o tubo no dispositivo de separação magnética para magnetizar as Partículas CH Mag-Bind®.
30. Aspire e elimine o Tampão SPW residual.
31. Deixe o tubo/placa no dispositivo de separação magnética durante 25 minutos para secar as Partículas CH Mag-Bind®.
32. Retire o tubo/placa que contém as Partículas CH Mag-Bind® do dispositivo de separação magnética.
33. Adicione 50–100 µL de Tampão de eluição.
34. Agite no vórtex a temperatura ambiente durante 5 minutos para ressuspender as Partículas CH Mag-Bind®.
35. 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.
36. Transfira o sobrenadante limpo que contém o ADN purificado para um tubo de microcentrífuga de 1,5 mL ou uma microplaca limpa (não fornecidos).
37. 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><b>Fabricante</b> Omega Bio-tek, Inc. 400 Pinnacle Way Suite #450 Norcross, GA 30071, USA Website: <a href="http://www.omegabiotek.com">www.omegabiotek.com</a> Email: <a href="mailto:info@omegabiotek.com">info@omegabiotek.com</a> SRN: US-MF-000024148</p>
	<p><b>Representante autorizado na Europa</b> Qarad EC-REP BV Pas 257 2440 Geel Belgium SRN:BE-AR-000000040</p>
	<p><b>Suíça Representante Autorizado</b> 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
 YYYY-MM	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



Sem perigos adicionais ou não classificado como perigoso de acordo com o GHS



Website



Telefone



Fax



Email



LinkedIn



Twitter



Facebook

## Histórico de revisões do documento

Revisão	Descrição
v1.2, Julho de 2023	Adicionadas informações sobre o Representante Autorizado Suíça
v1.1, maio de 2023	O JSB Buffer no kit M3298-01 agora é fornecido em 9 frascos individuais em vez de um frasco a granel para atender aos requisitos de volume de embalagem primária para o transporte de líquidos inflamáveis.
v1.0, novembro de 2022	Publicação inicial

# Avisos e isenções de responsabilidade

---

## REACH Divulgação

Para utilização na União Europeia.

O Tampão JSB e o Tampão GT7 v1.1 contêm 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.

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