

Kit cfDNA CE IVD MB Fit24™

Produto	Preparação
B3298-10-48PFCEIVD	48 preparações

Data do manual: Outubro de 2023
Número de revisão: v1.0



Para utilização no diagnóstico in vitro



Omega Bio-tek, Inc.
400 Pinnacle Way, Suite 450
Norcross, GA 30071



www.omegabiotek.com



+1-770-931-8400



+1-770-931-0230



info@omegabiotek.com



[omega-bio-tek](https://www.linkedin.com/company/omega-bio-tek)



[omegabiotek](https://twitter.com/omegabiotek)



[omegabiotek](https://www.facebook.com/omegabiotek)

Kit cfDNA CE IVD MB Fit24™

Índice

Utilização prevista e utilizador previsto	2
Descrição do produto	3
Conteúdo do kit/Armazenamento e estabilidade.....	4
Controlo de qualidade/Avisos/Informações de segurança.....	5
Precauções	6
Limitações	7
Quantificação.....	8
Manuseamento e preparação de materiais plásticos	9
Kit cfDNA CE IVD MB Fit24™	10
Informações de contacto.....	12
Símbolos.....	13
Histórico de revisões de documentos	15
Avisos e isenções de responsabilidade	16

Data do manual: Outubro de 2023

Número de revisão: v1.0



Utilização prevista

Para utilização no diagnóstico in vitro.

O Kit cfDNA CE IVD MB Fit24™ destina-se a ser utilizado em contexto de laboratório para a realização de extrações de cfDNA a partir de até 4 ml de plasma/soro no Sistema de Purificação de Ácidos Nucleicos MagBinder® Fit²⁴.

Utilizador previsto

Este kit destina-se a utilização profissional.

O Kit cfDNA CE IVD MB Fit24™ destina-se à utilização in vitro e a ser utilizado por ou sob a supervisão de utilizadores profissionais, tais como pessoal de laboratório, técnicos, investigadores e médicos com instrução e formação específicas em técnicas de biologia molecular e/ou plataformas de processamento magnético em funcionamento.

Descrição do produto

O Kit cfDNA CE IVD MB Fit24™ foi concebido para o isolamento rápido e fiável de ADN circulante a partir de até 4 ml de amostras de plasma/soro com a utilização do Sistema de Purificação de Ácidos Nucleicos MagBinder® Fit²⁴. Este kit está pronto para automatização com reagentes pré-preenchidos com o kit cfDNA Mag-Bind® colocados num cartucho de reagente pronto a utilizar, especificamente configurado para o instrumento MagBinder® Fit²⁴ para fornecer resultados mais rápidos e consistentes. Este procedimento fornece um fluxo de trabalho de extração semiautomatizado para processamento de até 24 amostras em menos de 55 minutos depois de carregadas no MagBinder® Fit²⁴.

O Kit cfDNA CE IVD MB Fit24™ melhora a facilidade de utilização, conveniência e precisão de extração e reduz o tempo de intervenção, ignorando os passos de preparação de reagentes e distribuição de tampão. As amostras são lisadas offline e o lisado é transferido para o poço de reagente que contém o tampão de ligação. O tampão de ligação de fórmula única permite que grandes volumes de amostra sejam processados em formato semiautomatizado com até 4 ml de plasma ou soro a ser processado num cartucho de reagente sem divisão da amostra. As propriedades magnéticas das partículas CH do Mag-Bind® permitem uma separação magnética rápida, especialmente durante passos que envolvam grandes volumes. A elevada capacidade de ligação diminui a quantidade de partículas magnéticas necessárias, reduzindo assim o volume de eluição. É possível eluir até 4 ml de plasma ou soro em apenas 50 µl. Este sistema combina as propriedades de ligação aos ácidos nucleicos reversíveis das partículas paramagnéticas do Mag-Bind® com um sistema de ligação único que tem como alvo fragmentos de ADN mais pequenos (150-400 pb) e minimiza a ligação de fragmentos maiores, tais como ADN genómico. O cfDNA purificado é de alta qualidade e é adequado para utilização direta na maioria das aplicações a jusante, tais como PCR, PCR digital, sequenciação da próxima geração, etc.

O instrumento MagBinder® Fit²⁴ está pré-programado com protocolos de purificação que são otimizados para funcionar com cartuchos de reagente cheios e com cartuchos de reagente cheios pelo utilizador. O instrumento requer que o utilizador selecione o protocolo adequado, dependendo do kit que está a ser utilizado. Se estiver a utilizar o Kit cfDNA CE IVD MB Fit24™ para volumes de amostra diferentes dos listados neste manual, contacte o seu representante Omega Bio-tek para obter instruções de pré-processamento.

A seguinte literatura referenciada fornece uma revisão dos métodos de isolamento e purificação de ADN/ARN^{1,2}.

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	B3298-10-48PF
Purificações	48
Tubo de eluição (2 ml)	50
Coletor de tubos de amostra MagBinder®	2 x 2 coletores
Cartucho de reagente precheio*	48
Tampão DS	20 ml
Tampão de eluição	250 ml
Partículas CH Mag-Bind®	1,1 ml
Solução de proteinase K	4 ml

*Os tampão e a respetiva localização nos cartuchos de reagente precheios são mostrados na página 9.

Armazenamento e estabilidade

Todos os componentes do Kit cfDNA CE IVD MB Fit24™ têm uma garantia de, pelo menos, 12 meses a partir da data de compra, quando armazenados da seguinte forma. A solução de proteinase K pode ser conservada à temperatura ambiente durante um período máximo de 12 meses. Para armazenamento a longo prazo, conserve a solução de proteinase K entre 2 °C e 8 °C. Armazene todos os outros componentes às temperaturas recomendadas, conforme mencionado no rótulo e ao abrigo da luz intensa. Depois de o produto ser aberto, continue a manter o produto de acordo com as instruções constantes no rótulo. Certifique-se de que as tampas estão devidamente apertadas após cada utilização. Durante o transporte ou armazenamento em condições ambientais frias, podem formar-se precipitados em alguns tampões. Dissolva estes depósitos aquecendo a solução a 37 °C e agitando suavemente.

Controlo de qualidade

De acordo com o Sistema de Gestão da Qualidade com certificação ISO da Omega Bio-tek, todos os reagentes do Kit cfDNA CE IVD MB Fit24™ são testados por rotina contra especificações predeterminadas numa base lote a lote para garantir a fiabilidade no desempenho e a consistência na qualidade do produto.

Avisos

Este kit destina-se a utilização no diagnóstico in vitro.

Leia atentamente todas as instruções antes de utilizar o kit.

Após a extração, a superfície do MagBinder® é considerada um risco biológico. Utilize métodos de descontaminação e eliminação adequados em conformidade com todos os regulamentos locais estatais/provinciais e/ou nacionais aplicáveis.

Informações de segurança

Todos os químicos e materiais biológicos são potencialmente perigosos.

As amostras biológicas, tais como plasma, soro, tecidos, fluidos corporais, sangue, etc., são potencialmente infecciosas e têm de ser tratadas como materiais com risco biológico. Realize todo o trabalho em instalações devidamente equipadas, seguindo as precauções universais e utilizando equipamento de segurança pessoal adequado, como luvas descartáveis, batas, óculos de segurança, etc., conforme exigido pelas políticas e procedimentos descritos pela sua instituição.

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

Precauções

Alguns dos tampões incluídos no Kit cfDNA CE IVD Mag-Bind® contêm agentes caotrópicos à base de guanidina, que podem formar compostos altamente reativos quando combinados com lixívia. **NÃO adicione lixívia ou soluções ácidas** aos resíduos de preparação de amostras que contenham guanidina. Para obter informações detalhadas sobre os reagentes, acesse às FDS online.

Componente	Descrição
Tampão DS	Contém: Detergente aniônico. Perigo! Provoca lesões oculares graves. Provoca irritação cutânea. Nocivo para os organismos aquáticos. Use luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial. Evite a libertação para o ambiente. Em caso de exposição ou preocupação: contacte um centro antivenenos ou um médico. NOS OLHOS: Enxague cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar. Retire a roupa contaminada e lave-a antes de voltar a usar. NA PELE: Lave com água abundante e sabão. Consulte um médico em caso de irritação cutânea.
Solução de proteinase K	Contém: Perigo de proteinase K! Provoca irritação cutânea ligeira. Pode provocar sintomas de alergia ou de asma ou dificuldades respiratórias se inalado. Evite respirar poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis. Use luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial. Use proteção respiratória. Em caso de exposição ou preocupação: Contacte um centro antivenenos ou um médico. Retire a vítima para uma zona ao ar livre e mantenha-a 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. Nocivo por ingestão. Provoca irritação cutânea. Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. Mantenha afastado do calor, superfícies quentes, faíscas, chamas abertas e outras fontes de ignição. Não fume. Mantenha o recipiente bem fechado. Ligue à terra/ligue o recipiente e o equipamento recetor. Utilize equipamento elétrico/de ventilação/iluminação/intrinsecamente seguro à prova de explosão. Utilize apenas ferramentas que não produzam faíscas. Tome medidas de precaução contra descargas estáticas. Lave minuciosamente todas as áreas externas expostas do corpo após o manuseamento. Não coma, beba ou fume durante a utilização deste produto. Use luvas de proteção, vestuário de proteção, proteção ocular e proteção facial. Evite a libertação para o ambiente. EM CASO DE INCÊNDIO: Utilize espuma resistente ao álcool ou espuma proteica normal para extinguir. NOS OLHOS: Enxague cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar. Contacte imediatamente um CENTRO ANTIVENENOS/médico/socorrista. NA PELE (ou cabelo): Retire imediatamente toda a roupa contaminada. Enxague a pele com água/tome um duche. Lave com água abundante e sabão. Enxague a boca. Em caso de irritação cutânea, consulte um médico. Retire a roupa contaminada e lave-a antes de voltar a usar.

Precauções

Componente	Descrição
Tampão GT7 v1.1	Contém: Tiocianato de guanidina. Perigo! Nocivo por ingestão. Provoca queimaduras cutâneas graves e lesões oculares. Não respire névoas/vapores/aerossóis. Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. Use vestuário de proteção, proteção ocular e proteção facial. Lave minuciosamente todas as áreas externas expostas do corpo após o manuseamento. Não coma, beba ou fume durante a utilização deste produto. Evite a libertação para o ambiente. SE INGERIDO: Enxague a boca. NÃO induza o vômito. Caso sinta indisposição, contacte um CENTRO ANTIVENENOS/médico/socorrista. NA PELE (ou cabelo): Retire imediatamente toda a roupa contaminada. Enxague a pele com água/tome um duche. Lave a roupa contaminada antes de a reutilizar. NOS OLHOS: Enxague cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar. Contacte imediatamente um CENTRO ANTIVENENOS/médico/socorrista. SE INALADO: Retire a pessoa para uma zona ao ar livre e mantenha-a confortável para respirar.
Tampão eSPW	Contém: Etanol. Perigo! Líquido e vapor facilmente inflamáveis. Provoca lesões oculares graves. Mantenha afastado do calor, superfícies quentes, faíscas, chamas abertas e outras fontes de ignição. Não fume. Mantenha o recipiente bem fechado. Ligue à terra/ligue o recipiente e o equipamento recetor. Utilize equipamento elétrico/de ventilação/iluminação/intrinsecamente seguro à prova de explosão. Utilize apenas ferramentas que não produzam faíscas. Tome medidas de precaução contra descargas estáticas. Lave minuciosamente todas as áreas externas expostas do corpo após o manuseamento. Use luvas de proteção, vestuário de proteção, proteção ocular e proteção facial. EM CASO DE INCÊNDIO: Utilize espuma resistente ao álcool ou espuma proteica normal para extinguir. NOS OLHOS: Enxague cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar. Se a irritação ocular persistir, consulte um médico. NA PELE (ou cabelo): Retire imediatamente toda a roupa contaminada. Enxague a pele com água/tome um duche.

Limitações

O desempenho do kit foi avaliado isolando cfDNA até 4 ml de amostras de plasma/soro e avaliando a adequação do cfDNA purificado em análise direta a jusante pelo método de amplificação padrão. Tenha em atenção que o utilizador é responsável por verificar as características de desempenho para qualquer procedimento não abrangido pelos estudos de avaliação de desempenho da Omega Bio-tek. O utilizador também é responsável por estabelecer as métricas do desempenho necessárias para a sua aplicação de diagnóstico posterior escolhida. Devem ser empregues controlos adequados em qualquer aplicação de diagnóstico a jusante utilizando cfDNA purificado utilizando o Kit cfDNA CE IVD MB Fit24™.

Quantificação

Diretrizes para quantificação de cfDNA

A quantificação de ADN é tipicamente realizada por métodos baseados em espectrofotometria (NanoDrop®) ou fluorometria (Qubit®). Ambos os métodos são imprecisos no que diz respeito à quantificação de ADN livre em circulação, porque o cfDNA está normalmente presente em quantidades baixas e estes métodos não conseguem distinguir entre o cfDNA e o ADN genómico celular de alto peso molecular. É importante estabelecer estratégias exatas não só para quantificar com precisão o cfDNA, mas também para retirar conclusões pertinentes sobre a eficiência da extração. Algumas das estratégias que podem ajudar na quantificação de cfDNA são elucidadas abaixo.

TapeStation ou analisador de fragmentos

O perfil do tamanho dos fragmentos pode ser utilizado para a quantificação de cfDNA. O cfDNA é normalmente pequenos fragmentos de ADN com um pico de distribuição do tamanho a ~170 pb. As alturas dos picos e a separação no eletroferograma, correspondentes ao tamanho do fragmento de cfDNA e ao tamanho de gDNA, podem irradiar luz nas proporções relativas de cada um e podem ajudar a retirar conclusões sobre a eficiência da extração de cfDNA. A funcionalidade de análise regional disponibilizada pelo software pode ajudar ainda mais a aproximar a concentração de cfDNA. Por exemplo, a concentração de ADN dentro da região de 100-300 pb onde é mais provável que o cfDNA esteja presente pode ser quantificada utilizando o software TapeStation utilizando esta funcionalidade.

qPCR

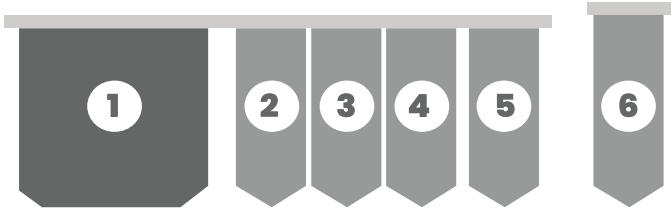
A quantificação baseada na análise de qPCR é eficaz se os primers visarem apenas a fração de cfDNA e não a fração de gDNA. Caso contrário, os primers serão amplificados a partir das frações de cfDNA e gDNA presentes no eluato, distorcendo os resultados. Por exemplo, a utilização de primers específicos do tumor se o cfDNA for derivado do tumor pode analisar a fração de cfDNA sem a interferência do gDNA. Para fins de avaliação do kit, a utilização de um spike-in, como ADN bacteriano riscado de 200 pb em plasma/soro, juntamente com primers bacterianos específicos, pode fornecer informações sobre a eficiência da extração em termos de cfDNA real presente no ADN total isolado.

Análise da integridade de cfDNA

A análise da integridade do cfDNA é realizada por PCR em tempo real de repetições de ALU utilizando dois conjuntos de primers para amplificar diferentes comprimentos de fragmentos de ADN (115 pb e 247 pb). As sequências de 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 principalmente a quantidade de fragmentos de ADN longos. A integridade do cfDNA pode ser reportada como índice de integridade, que é calculado como a razão de ALU247 para ALU115. Se o ADN isolado for principalmente gDNA, prevê-se que ALU247/ALU115 seja 1. O rácio situa-se entre 0 e 1 se existirem fragmentos curtos (cfDNA). Normalmente, quanto maior for a quantidade de cfDNA na amostra, maior será o índice de integridade.

Manuseamento e preparação de materiais plásticos

- 1. Antes de iniciar a extração, verifique sempre se os cartuchos de reagente apresentam precipitação. Dissolva os precipitados, aquecendo o cartucho de reagente a 37 °C, agitando suavemente.
- 2. Vire para baixo ou bata suavemente em cada cartucho de reagente antes de remover o selo para garantir que os reagentes estão no fundo dos poços e não se agarram à parte inferior do selo.
- 3. Retire cuidadosamente o selo dos cartuchos de reagente e coloque imediatamente o cartucho de reagente no tabuleiro de carregamento quando estiver pronto.
- 4. A tabela abaixo descreve o conteúdo do cartucho de reagente.



Posição do poço	Conteúdo	Volume por poço
1	Tampão JSB	4 ml
2	Tampão GT7 v1.1	1 ml
3	Tampão GT7 v1.1	1 ml
4	Tampão eSPW	1 ml
5	Tampão eSPW	1 ml
6	Tampão de eluição ¹	50 µL – 100 µL

¹O tampão de eluição tem de ser adicionado ao tubo de eluição antes de iniciar a extração.

Protocolo para até 4 ml de plasma/soro

Importante: Quando iniciar o programa no instrumento MagBinder® Fit²⁴, certifique-se de que está selecionado o protocolo correto, **OBTIB3298**.

Materiais e equipamento a ser fornecido pelo utilizador:

- Incubadora ou bloco de aquecimento com capacidade para 60 °C
- Agitador Vortex
- Pipeta serológica com capacidade para 10 ml
- Tubos de centrifugação de 15 ml

Antes de iniciar:

- Prepare os cartuchos de reagente de acordo com a secção “Manuseamento e preparação de materiais plásticos” na página 9.
- Defina a incubadora ou o bloco de aquecimento para 60 °C.

1. Adicione até 4 ml de amostra de plasma/soro a um tubo de centrifugação de 15 ml (não fornecido). Se o volume da amostra for inferior a 4 ml, aumente o volume para um máximo de 4 ml com tampão de eluição.
2. Adicione 60 µl de solução de proteinase K.
3. Adicione 270 µl de tampão DS.
4. Agite em vórtex à velocidade máxima ou pipete para cima e para baixo para misturar bem.
5. Incube a 60 °C durante 30 minutos. Misture invertendo ou agitando a cada 10 minutos.
6. Deixe repousar à temperatura ambiente durante 10 minutos.

7. Retire o selo do cartucho de reagente e coloque-o no tabuleiro de carregamento MagBinder® Fit²⁴. Transfira o lisado do Passo 6 para o Poço 1 do cartucho de reagente. Pipete para cima e para baixo 5 a 10 vezes para misturar totalmente.

Nota: Prepare o cartucho de reagente de acordo com a secção "Manuseamento e preparação de materiais plásticos" na página 9.

8. Adicione 20 µl de Partículas Mag-Bind® CH ao poço 1 do cartucho de reagente. Pipete para cima e para baixo para misturar completamente.
9. Prepare o tubo de eluição enchendo com 50 µl a 100 µl de volume de tampão de eluição.
10. Carregue os coletores de tubos de amostra no suporte de coletores de tubos de amostra.

Nota: Certifique-se de que o coletor de tubos de amostra é empurrado totalmente para trás e completamente colocado.




11. Coloque o tabuleiro de carregamento com os cartuchos de reagente e os tubos de eluição na plataforma do instrumento. Pressione suavemente os cartuchos de reagente e os tubos de eluição para que fiquem fixos na plataforma. Faça deslizar a plataforma para dentro do instrumento e feche a porta.

Nota: Certifique-se de que os tubos de eluição estão posicionados abertos com as tampas orientadas para a direita do tubo. A orientação dos tubos de eluição é importante para prevenir um erro do instrumento durante a execução.

12. Inicie o programa no instrumento MagBinder® Fit²⁴.
13. Depois de concluída a execução, retire o tubo de eluição do instrumento e tape-o bem.
14. Conserve o ADN a -20 °C.

Informações de contacto

Para encomendar novamente consumíveis, comunique uma falha ou reclamação do dispositivo, contacte:

	Fabricante Omega Bio-tek, Inc. 400 Pinnacle Way Suite #450 Norcross, GA 30071, EUA Website: www.omegabiotek.com E-mail: info@omegabiotek.com SRN: US-MF-000024148
	Representante Autorizado Europeu Qarad EC-REP BV Pas 257 2440 Geel Bélgica SRN: BE-AR-000000040
	Representante Autorizado na Suíça Qarad Suisse S.A. World Trade Center Avenue Gratta-Paille 2 1018 Lausanne Suíça CHRN: CHRN-AR-20002058
Reino Unido	Representante Autorizado no Reino Unido Qarad UK Ltd 8 Northumberland Ave Westminster, Londres WC2N 5BY Reino Unido

Símbolos

Os símbolos que se seguem podem constar nas instruções de utilização ou na embalagem e rotulagem:

Imagem	Descrição
	Representante Autorizado na UE
	Representante Autorizado na Suíça
	Prazo de validade
	Intervalo de temperatura de armazenamento a longo prazo
	Verifique as condições de armazenamento dos componentes
	Número de lote
	Número de referência, peça ou catálogo
	Número de série
	Quantidade
	Cuidado
	Instruções de utilização
	Marca regulamentadora
	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	Identificação única do dispositivo
	Fabricante

Símbolos



Embalagem danificada
(Não utilizar se a embalagem estiver danificada)



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



Website



Telefone



Fax



E-mail



LinkedIn



Twitter



Facebook

Histórico de revisões de documentos

Revisão	Descrição
v1.0, outubro de 2023	Lançamento inicial.

Avisos e isenções de responsabilidade

Divulgação REACH

Para utilização na União Europeia.

O tampão JSB e o tampão GT7 v1.1 contêm Triton X-100, 2-[4-(2,4,4-trimetilpentan-2-il) fenoxi]etanol (CAS 9002-93-1), uma substância incluída na lista de autorizações europeias (Anexo XIV) do Regulamento REACH (CE) N.º 1907/2006. As substâncias e misturas utilizadas para fins de Investigação e Desenvolvimento Científico (SR&D) estão isentas de requisitos de autorização se utilizadas abaixo de 1 tonelada por ano em volume.

A Investigação e Desenvolvimento Científico inclui investigação experimental ou atividades analíticas à escala laboratorial, como a síntese e testes de aplicações de químicos, testes de lançamento, etc., bem como a utilização da substância na monitorização e controlo de qualidade de rotina ou diagnóstico in vitro.

Marcas comerciais e licenças

HiBind®, E.Z.N.A.®, MicroElute®, Mag-Bind®, MagBinder® e MB Fit24™ são marcas comerciais registadas da Omega Bio-tek, Inc.

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