

Instruções de utilização PSP® SalivaGene DNA Kit

INVITEK
diagnostics



Língua: PT



REF 1035200200
1035200300



50 preparações
250 preparações



ALS Life Sciences Portugal, S.A.
Zona Industrial de Tondela, ZIM II,
Lote 6, 3460-070 Tondela
Portugal

Notas importantes

Obrigado por adquirir o **PSP® SalivaGene DNA Kit** da Invitek Diagnostics.

Em combinação com o **SalivaGene Collector** ou com o **SalivaGene Swab Comfort**, o produto serve para o isolamento manual de ADN genómico e bacteriano estabilizado de amostras de saliva e zaragatoas orais utilizando a tecnologia de coluna de purificação.

ATENÇÃO! O manuseamento inadequado e o uso para fins diferentes da utilização pretendida podem causar perigo e danos. Por isso, solicitamos que leia estas instruções de utilização com atenção e as siga cuidadosamente. Mantenha-as sempre ao seu alcance. Para evitar ferimentos pessoais, observe também as instruções de segurança.

Todas as versões das instruções de utilização podem ser encontradas no nosso website para download ou podem ser solicitadas através do endereço: www.invitek.com

Contacto:

Apoio técnico:

techsupport@invitek.com

ALEMANHA

Haynauer Str. 60, 12249 Berlim, Alemanha

PORTUGAL

Zona Industrial de Tondela, ZIM II, Lote 6, 3460-070 Tondela, Portugal

+351 232 817 817

© 2025 Invitek Diagnostics, todos os direitos reservados.

O kit está em conformidade com o REGULAMENTO (UE) 2017/746 relativo aos dispositivos médicos para diagnóstico *in vitro*. No entanto, não se destina ao uso para diagnóstico *in vitro* em países onde o REGULAMENTO (UE) 2017/746 não é reconhecido.

Marcas comerciais: InviSorb®, PSP®, InviMag®, Eppendorf®. As marcas registadas, marcas comerciais, etc. mencionadas neste documento, mesmo que não sejam especificamente identificadas como tal, não devem ser consideradas desprotegidas por lei.

InviGenius®, InviMag®, InviSorb®, Invitek®, InviTrap®, MSB®, PSP®, RTP® são marcas registadas da Invitek Molecular GmbH.

Índice

1.	Instruções de segurança	3
2.	Informações sobre o produto	6
2.1	Conteúdo do kit	6
2.2	Reagentes e equipamento a fornecer pelo utilizador	7
2.3	Armazenamento, aspeto e prazo de validade	8
2.4	Utilização prevista	8
2.5	Informações e especificações do produto	9
2.6	Princípio e procedimento	9
3.	Extração de ácido nucleico com o PSP® SalivaGene DNA Kit.....	10
3.1	Antes de iniciar um protocolo	10
3.2	Amostragem e armazenamento do material inicial	11
3.3	Protocolo curto PSP® SalivaGene DNA Kit.....	12
3.4	Protocolo: Isolamento de ADN de amostras estabilizadas de saliva e zaragatoa ...	13
4.	Apêndice	14
4.1	Resolução de problemas.....	14
4.2	Garantia	15
4.3	Símbolos utilizados na rotulagem dos produtos e em.....	15
4.4	Outros documentos e informações complementares.....	16
4.5	Informações para encomenda.....	16

1. Instruções de segurança

Certifique-se de que qualquer pessoa que utilize este produto recebeu instruções sobre as práticas gerais de segurança para laboratórios, bem como as informações de segurança fornecidas neste documento.

- Quando e enquanto trabalhar com produtos químicos, use sempre vestuário de proteção, luvas descartáveis e óculos de segurança.
- Substituir sempre as pontas de pipeta entre transferências de líquidos. Para evitar a contaminação cruzada, recomendamos a utilização de pontas de pipeta com barreira de aerossóis.
- Não reutilizar os consumíveis.
- Descartar as luvas se ficarem contaminadas.
- Não combinar componentes de kits diferentes.
- Evitar a contaminação microbiana dos reagentes do kit.
- Para minimizar o risco de infecções provocadas por material potencialmente infeccioso, recomendamos que se trabalhe em câmara de fluxo laminar até as amostras estarem lisadas.

Antes de manusear produtos químicos, leia e compreenda todas as fichas de dados de segurança (FDS) aplicáveis. Estas estão disponíveis em www.invitek.com.

Elimine os resíduos do kit e os fluidos residuais em conformidade com os regulamentos do seu país e consulte novamente a FDS. A Invitek Diagnostics não realizou testes nos resíduos líquidos gerados pelo kit para detetar materiais infecciosos residuais. Embora a contaminação dos resíduos líquidos com materiais infecciosos residuais seja altamente improvável, esta não pode ser completamente excluída. Por conseguinte, os resíduos líquidos devem ser considerados infecciosos e devem ser manuseados e eliminados de acordo com os regulamentos de segurança locais.

As frases de risco e segurança da Comunidade Europeia aplicadas aos componentes do **PSP® SalivaGene DNA Kit** e para os **SalivaGene Stabilization Sets** estão enumeradas a seguir:

Saliva DNA Stabilizer (SalivaGene Swab Comfort)



Atenção

Advertências de perigo

H319 - Provoca irritação ocular grave.

H412 - Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros

Recomendações de prudência

P264 - Lavar as mãos, os antebraços e o rosto cuidadosamente após manuseamento.

P273 - Evitar a libertação para o ambiente.

P280 - Usar luvas de protecção/vestuário de protecção/protecção ocular/protecção facial/protecção auditiva.

P305+P351+P338 - 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. Continue a enxaguar.

P337+P313 - Caso a irritação ocular persista: consulte um médico.

P501 - Eliminar o conteúdo/recipiente num ponto de recolha de resíduos perigosos ou especiais, de acordo com a regulamentação local, regional, nacional e/ou internacional.

Buffer SLK (SalivaGene Collector)



Perigo

Contém: cloreto de amónio; brometo de hexadeciltrimetilamónio

Advertências de perigo

H302 - Nocivo por ingestão.

H318 - Provoca lesões oculares graves.

H410 - Muito tóxico para os organismos aquáticos com efeitos duradouros.

Recomendações de prudência

P264 - Lavar as mãos, os antebraços e o rosto cuidadosamente após manuseamento.

P270 - Não comer, beber ou fumar durante a utilização deste produto.

P273 - Evitar a libertação para o ambiente.

P280 - Usar luvas de protecção/vestuário de protecção/protecção ocular/protecção facial/protecção auditiva.

P301+P312 - EM CASO DE INGESTÃO: caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico.

P305+P351+P338 - 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. Continue a enxaguar.

P310 - Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico.

P330 - Enxaguar a boca.

P391 - Recolher o produto derramado.

P501 - Eliminar o conteúdo/recipiente num ponto de recolha de resíduos perigosos ou especiais, de acordo com a regulamentação local, regional, nacional e/ou internacional.

Proteinase K



Perigo

Advertências de perigo

H315 - Provoca irritação cutânea.

H319 - Provoca irritação ocular grave.

H334 - Quando inalado, pode provocar sintomas de alergia ou de asma ou dificuldades respiratórias.

H335 - Pode provocar irritação das vias respiratórias.

Recomendações de prudência

P261 - Evitar respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis.

P264 - Lavar as mãos, os antebraços e o rosto cuidadosamente após manuseamento.

P271 - Utilizar apenas ao ar livre ou em locais bem ventilados.

P280 - Usar luvas de protecção/vestuário de protecção/protecção ocular/protecção facial/protecção auditiva.

P284 - Usar protecção respiratória.

P302+P352 - SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: Lavar abundantemente com água.

P304+P340 - EM CASO DE INALAÇÃO: retirar a pessoa para uma zona ao ar livre e mantê-la numa posição que não dificulte a respiração.

P305+P351+P338 - 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. Continue a enxaguar.

P312 - Caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico.

P501 - Eliminar o conteúdo/recipiente num ponto de recolha de resíduos perigosos ou especiais, de acordo com a regulamentação local, regional, nacional e/ou internacional.

Lysis Buffer HLT



Atenção

Contém: cloreto de guanidínio

Advertências de perigo

H302 - Nocivo por ingestão.

H315 - Provoca irritação cutânea.

H319 - Provoca irritação ocular grave.

Recomendações de prudência

P264 - Lavar as mãos, os antebraços e o rosto cuidadosamente após manuseamento.

P270 - Não comer, beber ou fumar durante a utilização deste produto.

P280 - Usar luvas de protecção/vestuário de protecção/protecção ocular/protecção facial/protecção auditiva.

P301+P312 - EM CASO DE INGESTÃO: caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico.

P302+P352 - SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: lavar abundantemente com água.

P305+P351+P338 - 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. Continue a enxaguar.

P321 - Tratamento específico (ver as instruções suplementares de primeiros socorros no presente rótulo).

P330 - Enxaguar a boca.

P332+P313 - Em caso de irritação cutânea: consulte um médico.

P337+P313 - Caso a irritação ocular persista: consulte um médico.

P362+P364 - Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar.

P501 - Eliminar o conteúdo/recipiente num ponto de recolha de resíduos perigosos ou especiais, de acordo com a regulamentação local, regional, nacional e/ou internacional.

Informações médicas de emergência podem ser obtidas 24 horas por dia no infotrac, www.infotrac.net:

fora dos EUA: 1 - 352 - 323 - 3500

nos EUA: 1 - 800 - 535 - 5053

2. Informações sobre o produto

2.1 Conteúdo do kit

O **PSP® SalivaGene DNA Kit** está otimizado para o isolamento de ácidos nucleicos de amostras recolhidas com o **SalivaGene Collector** ou o **SalivaGene Swab Comfort**.

Os produtos para recolha e estabilização de amostras têm de ser adquiridos separadamente na Invitek Diagnostics. Consulte o capítulo 2.2 ou 4.5 para obter informações sobre como encomendar.

	50 preparações	250 preparações
Nº de catálogo	1035200200	1035200300
Lysis Buffer HLT	15 ml/garrafa	60 ml/garrafa
Binding Solution (adicionar isopropanol 99,7%)	garrafa vazia (volume final 40 ml)	garrafa vazia (volume final 200 ml)
Proteinase K	1 frasco para 1,5 ml de solução de trabalho	5 frascos para 5 x 1,5 ml de solução de trabalho
Wash Buffer HLT	30 ml/garrafa (volume final 50 ml)	105 ml/garrafa (volume final 175 ml)
Wash Buffer	2 x 18 ml/garrafa (volume final 2 x 60 ml)	2 x 60 ml/garrafa (volume final 2 x 260 ml)
Elution Buffer M	15 ml/garrafa	30 ml/garrafa
RTA Spin Filter Set	50 unidades	250 unidades
RTA Receiver Tubes	50 unidades	250 unidades
1.5 ml Receiver Tubes	50 unidades	250 unidades
Protocolo curto	1 folheto	1 folheto

2.2 Reagentes e equipamento a fornecer pelo utilizador

Equipamento de laboratório:

- Microcentrífuga (*todos os protocolos foram validados com uma Centrífuga 5415 D, Eppendorf*)
- Agitador térmico
- Proveta graduada (250 ml)
- Luvas descartáveis
- Pipeta e pontas de pipeta
- Agitador vortex
- Tubos de reação (1,5 ml, 2,0 ml)

Para recolha e estabilização de amostras:

Produto	Tamanho da embalagem	N.º de catálogo
SalivaGene Collector	50 unidades	1035211200
SalivaGene Swab Comfort	50 unidades	1035231100

Líquidos e solventes:

- Água livre de DNase/RNase
- Etanol a 96-100% (não desnaturado)
- Isopropanol*
- Opcional: Lysozyme (10 mg/ml).

*O kit é validado com 2-Propanol; Rotipuran® >99,7%, p.a., ACS, ISO (Referência 6752) de Carl Roth

* Possíveis fornecedores de Isopropanol:

Carl Roth
2-Propanol
Rotipuran® >99,7%, p.a., ACS, ISO
Referência 6752

Applichem
2-Propanol para a biologia molecular
Referência A3928

Sigma
2-Propanol
Referência 59304-1L-F

2.3 Armazenamento, aspeto e prazo de validade

Prazo de validade: Todos os tampões e componentes do kit devem ser armazenados à temperatura ambiente, exceto quando indicado em contrário, e têm um prazo de validade conforme indicado no rótulo exterior da embalagem do kit.

Após a abertura, os componentes individuais do kit, bem como os componentes preparados em conformidade antes da primeira utilização, têm um prazo de validade de 3 meses.

Antes de cada utilização, certifique-se de que todos os componentes estão à temperatura ambiente. Se houver precipitados relacionados com a temperatura nas soluções, dissolva-os por aquecimento cuidadoso (até 30°C).

A temperatura ambiente (TA) é definida como um intervalo de 15-30°C.

Wash Buffer: após adicionar etanol ao frasco, este deve ser firmemente fechado e armazenado à temperatura ambiente.

Wash Buffer HLT: após adicionar isopropanol ao frasco, este deve ser firmemente fechado e armazenado à temperatura ambiente.

Binding Solution: após adicionar isopropanol ao frasco, este deve ser firmemente fechado e armazenado à temperatura ambiente.

Proteinase K: uma vez dissolvida em água livre de DNase/RNase, a Proteinase K pode ser armazenada a 2-8 °C durante um período máximo de dois meses. Para uma conservação mais longa, manter a -20 °C, e congelar-descongelar apenas uma vez.

2.4 Utilização prevista

O **PSP® SalivaGene DNA Kit** é um kit de extração de ácidos nucleicos baseado na tecnologia de colunas de purificação, destinado ao isolamento e purificação de ADN bacteriano e ADN genómico.

O **PSP® SalivaGene DNA Kit** destina-se a ser utilizado com saliva humana ou amostras de zaratatoas orais.

O **PSP® SalivaGene DNA Kit** está otimizado para o isolamento de ácidos nucleicos de amostras recolhidas com o **SalivaGene Collector** ou o **SalivaGene Swab Comfort**, disponíveis separadamente na Invitek Diagnostics. O **SalivaGene Collector** e o **SalivaGene Swab Comfort** contêm uma solução de estabilização de ADN para recolha, estabilização, armazenamento e transporte de material de saliva e zaratatoas, respetivamente.

O produto destina-se exclusivamente à utilização por profissionais, tais como técnicos de laboratório, médicos e biólogos com formação em técnicas de biologia molecular e procedimentos de diagnóstico *in vitro*.

2.5 Informações e especificações do produto

Material inicial	Rendimento	Qualidade	Tempo
SalivaGene Collector, SalivaGene Swab Comfort: 500 µl de amostra estabilizada	Saliva: até 10 µg, dependendo do material da amostra Zaragatoas: até 1 µg (dependendo do dador)	$A_{260} : A_{280}$ 1.6 - 2.1	aprox. 30 min (incluído lise)

O rendimento e a qualidade do ADN purificado da saliva e das zaragatoas dependem do tipo e da origem da amostra, bem como do teor de bactérias e de ADN genómico. A quantidade de ADN genómico pode naturalmente variar muito entre indivíduos. Além disso, o estado de saúde do dador pode afetar o rendimento e a qualidade, especialmente no caso de certas doenças e medicamentos.

Aplicações posteriores:

O rendimento e a qualidade dos ácidos nucleicos isolados são geralmente adequados para diversas aplicações de diagnóstico molecular, tais como técnicas de PCR, NGS, métodos de hibridação e tipagem HLA. As aplicações subsequentes devem ser efetuadas de acordo com as especificações dos respetivos fabricantes.

2.6 Princípio e procedimento

1. Lise das amostras

As amostras são recolhidas utilizando o **SalivaGene Collector** ou o **SalivaGene Swab Comfort**. Todos os colectores de amostras contêm Saliva DNA Stabilizer, que facilita a pré-lise e a estabilização da amostra. Para a extração da amostra, são realizados passos de temperatura diferentes para lise da amostra, dependendo se o ADN é isolado de células ou bactérias do dador. A Lysozyme é adicionada para o isolamento do ADN bacteriano. A Proteinase K é utilizada para a digestão de proteínas.

2. Ligação de ADN

Ao adicionar Binding Solution ao lisado, são ajustadas as condições ótimas de ligação. Cada lisado é então aplicado a um RTA Spin Filter e os ácidos nucleicos são adsorvidos à membrana.

3. Lavagem para remoção de contaminações residuais

Os contaminantes são eficazmente lavados utilizando o Wash Buffer HLT e o Wash Buffer, enquanto o ADN permanece ligado à membrana.

4. Eluição de ADN

Os ácidos nucleicos são eluídos do RTA Spin Filter utilizando 50-100 µl de Elution Buffer M.

3. Extração de ácidos nucleicos com o PSP® SalivaGene DNA Kit

3.1 Antes de iniciar um protocolo

Quando utilizar o kit pela primeira vez, certifique-se de que todos os tampões e reagentes estão preparados conforme indicado:

Preparações de tampão antes da primeira utilização: 50 preparações
Binding Solution (frasco vazio): Adicionar 40 ml de isopropanol a 99,7% (grau de biologia molecular) à garrafa. Manter a garrafa sempre bem fechada.
Proteinase K: Ressuspender em 1,5 ml de água livre de DNase/RNase . Misturar bem até à dissolução completa.
Wash Buffer HLT: Adicionar 20 ml de isopropanol a 99,7 % à garrafa. Misturar bem, mantendo a garrafa sempre bem fechada.
Wash Buffer: Adicionar 42 ml de etanol a 96-100% à garrafa. Misturar bem, mantendo a garrafa sempre bem fechada.
Preparações de tampão antes da primeira utilização: 250 preparações
Binding Buffer (frasco vazio): Adicionar 200 ml de isopropanol a 99,7% (grau de biologia molecular) à garrafa. Manter a garrafa sempre bem fechada.
Proteinase K: Ressuspender cada tubo em 1,5 ml de água livre de DNase/RNase . Misturar bem até à dissolução completa.
Wash Buffer HLT: Adicionar 70 ml de isopropanol a 99,7 % à garrafa. Misturar bem, mantendo a garrafa sempre bem fechada.
Wash Buffer: Adicionar 200 ml de etanol a 96-100% à garrafa. Misturar bem, mantendo a garrafa sempre bem fechada.

- Ajustar o agitador térmico a 56°C e, para o isolamento do ADN bacteriano, também a 37°C e 95°C.
- Aquecer a quantidade necessária de **Elution Buffer M** a 56°C (são necessários 50-100 µl de **Elution Buffer** por amostra).
- Determinar o número de reacções necessárias, incluindo os controlos, e rotular a quantidade necessária de RTA Spin Filters (tampa) e a quantidade necessária de 1.5 ml Receiver Tubes (por amostra: é necessário 1 Receiver Tube).

3.2 Amostragem e armazenamento do material inicial

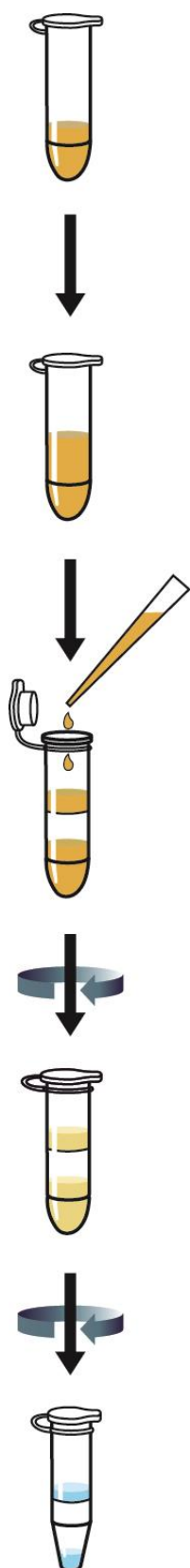
Armazenar as amostras corretamente é fundamental para garantir rendimentos reprodutíveis e elevados. Os rendimentos podem variar em função de fatores como o estado nutricional do dador, a idade e tipo de amostra, as condições de transporte e a conservação.

Devem evitar-se ciclos repetidos de congelação-descongelação das amostras para prevenir a degradação dos ácidos nucleicos. Recomenda-se que sejam tidas em conta orientações técnicas como as normas CEN/TS e ISO sobre o processo de pré-exame para diagnósticos moleculares no âmbito do Regulamento Europeu de Dispositivos Médicos de Diagnóstico in Vitro (IVDR), conforme salientado em G. Dagher, et al. (<https://doi.org/10.1016/j.nbt.2019.05.002>).

Amostras de saliva estabilizadas: Para obter instruções sobre a recolha de amostras com o SalivaGene Collector, consulte o manual do produto. O SalivaGene Collector contém um tampão de estabilização do ADN, permitindo que as amostras sejam armazenadas à temperatura ambiente até um ano.

Amostras de zaragatoas estabilizadas: Para obter instruções sobre a recolha de amostras com o SalivaGene Swab Comfort, consulte o manual do produto. O SalivaGene Swab Comfort contém um tampão de estabilização do ADN que permite que as amostras sejam armazenadas à temperatura ambiente até seis meses. Para um armazenamento mais prolongado, as amostras podem ser congeladas a -20°C. Retire a zaragatoa antes de o congelar.

3.3 Protocolo curto PSP® SalivaGene DNA Kit



Lise das amostras

1. Transferir 500 µl de amostra estabilizada para um 2.0 ml Safe-Lock Tube

a) Isolamento do ADN genómico

Adicionar 20 µl de **Proteinase K** e 200 µl de **Lysis Buffer HLT**
Após cada adição, misturar bem por agitação no vortex durante 15 segundos
Incubar durante 10 minutos a 56°C, agitando continuamente a 1.200 rpm

b) Isolamento do ADN bacteriano

Adicionar 10 µl de **Lysozyme** (10 mg/ml) e incubar durante 10 min a 37°C
Agitar continuamente ou misturar agitando o tubo de 5 em 5 minutos
Adicionar 20 µl de **proteinase K** e 200 µl de **Lysis Buffer HLT**
Após cada adição, misturar bem por agitação no vortex durante 15 segundos
Incubar durante 10 minutos a 56°C, agitando continuamente a 1.200 rpm
Incubar durante 10 min a 95°C, agitando continuamente a 1.200 rpm

Ligação de ADN

2. Adicionar 700 µl de **Binding Solution**.
Misturar bem, agitando no vortex durante 15 segundos
Centrifugar brevemente
3. Transferir 700 µl para um RTA Spin Filter Set.
Incubar durante 1 minuto à temperatura ambiente
Centrifugar 2 min a 11.000 x g
Descartar o filtrado e **voltar a colocar** o RTA Spin Filter no 2.0 ml RTA Receiver Tube
Repetir os passos para o restante volume de amostra
Descartar o filtrado e **voltar a colocar** o RTA Spin Filter no 2.0 ml RTA Receiver Tube

Lavagem para remoção de contaminações residuais

4. Adicionar 600 µl de **Wash Buffer HLT**
Centrifugar 1 min a 11.000 x g
Descartar o filtrado e colocar o RTA Spin Filter num 2.0 ml RTA Receiver Tube **novo**
5. Adicionar 700 µl de **Wash Buffer**, centrifugar 1 min a 11.000 x g
Descartar o filtrado e **voltar a colocar** o RTA Spin Filter no 2.0 ml RTA Receiver Tube
6. Repetir o passo de lavagem (5.) uma vez e **voltar a colocar** o RTA Spin Filter no 2.0 ml Receiver Tube
7. Centrifugar 4 minutos à velocidade máxima para remover o etanol
Descartar o RTA Receiver Tube

Eluição de ADN

8. Colocar o RTA Spin Filter num 1.5 ml Receiver Tube
Adicionar 50 - 100 µl de **Elution Buffer M** (pré-aquecido a 56°C)
Incubar 1 min à temperatura ambiente
Centrifugar 1 min a 11.000 x g para eluir o ADN
Eliminar o RTA Spin Filter e armazenar o ADN eluído de forma adequada

3.4 Protocolo: Isolamento de ADN de amostras estabilizadas de saliva e zaragatoa

1. Transferir 500 µl de amostra estabilizada para um 2.0 ml Safe-Lock Tube.
a) Isolamento do ADN genómico
Adicionar 20 µl de **Proteinase K** e 200 µl de **Lysis Buffer HLT**.
Após cada adição, misturar bem, agitando no vortex durante 15 segundos.
Incubar durante 10 minutos a 56°C, agitando continuamente a 1.200 rpm

b) isolamento do ADN bacteriano
Adicionar 10 µl de **Lysozyme** (10 mg/ml) e incubar durante 10 min a 37°C.
Agitar continuamente ou misturar, rodando o tubo de 5 em 5 minutos.
Adicionar 20 µl de **Proteinase K** e 200 µl de **Lysis Buffer HLT**.
Após cada adição, misturar bem, agitando no vortex durante 15 segundos.
Incubar durante 10 minutos a 56°C, agitando continuamente a 1.200 rpm
Incubar durante 10 minutos a 95°C, agitando continuamente a 1.200 rpm
2. Adicionar 700 µl de **Binding Solution** e misturar bem, agitando no vortex durante 15 segundos.
Centrifugar brevemente para remover as gotas do interior da tampa.
3. Transferir 700 µl para um RTA Spin Filter Set.
Fechar o RTA Spin Filter e incubar durante 1 minuto à temperatura ambiente.
Centrifugar durante 2 minutos a 11.000 x g.
Descartar o filtrado e **voltar a colocar** o RTA Spin Filter no 2.0 ml RTA Receiver Tube.
Repetir os passos para o restante volume de amostra.
Descartar o filtrado e **voltar a colocar** o RTA Spin Filter no 2.0 ml RTA Receiver Tube.
4. Adicionar 600 µl de **Wash Buffer HLT** e centrifugar durante 1 min a 11.000 x g.
Deitar fora o filtrado e colocar o RTA Spin Filter num 2.0 ml RTA Receiver Tube **novo**.
5. Adicionar 700 µl de **Wash Buffer** e centrifugar durante 1 min a 11.000 x g.
Descartar o filtrado e **voltar a colocar** o RTA Spin Filter no 2.0 ml RTA Receiver Tube.
6. Adicionar 700 µl de **Wash Buffer** e centrifugar durante 1 min a 11.000 x g.
Descartar o filtrado e **voltar a colocar** o RTA Spin Filter no 2.0 ml RTA Receiver Tube.
7. Centrifugar durante 4 minutos à velocidade máxima para remover completamente o etanol.
Deite fora o RTA Receiver Tube.
8. Colocar o RTA Spin Filter num 1.5 ml Receiver Tube. Adicionar 50-100 µl do **Elution Buffer M** pré-aquecido (56°C).
Incubar 1 min à temperatura ambiente.
Centrifugar durante 1 minuto a 11.000 x g para eluir o ADN.
Descartar o RTA Spin Filter.

Nota: O ADN também pode ser eluído num volume inferior de *Elution Buffer M* (dependendo do rendimento esperado). O volume mínimo para a eluição é de 30 µl. Também é possível repetir a etapa de eluição com volumes iguais de *Elution Buffer M*, o que aumentará o rendimento total.

4. Apêndice

4.1 Resolução de problemas

Problema	Causa possível	Recomendação
RTA Spin Filter obstruído	Lise celular insuficiente e/ou demasiado material inicial	Aumentar o tempo de lise Aumentar o tempo e/ou a velocidade de centrifugação Reduzir a quantidade de material inicial
Baixa quantidade de ADN	Lise celular insuficiente	Aumentar o tempo de lise, a purificação do ADN deve ser efectuada, no mínimo, 1 hora após a colheita da amostra. Reduzir a quantidade de material de partida para evitar a sobrecarga da coluna
	Eluição incompleta	Aumentar o tempo de incubação com o Elution Buffer M pré-aquecido para 5-10 min Eluir duas vezes com 100 µl de Elution Buffer M Utilizar um volume mais elevado de Elution Buffer M
	Baixa concentração de ácido nucleico na amostra	Eluir o ADN com um volume menor de Elution Buffer ; não utilizar volumes inferiores a 30 µl
	Diminuição da atividade da proteinase K	Repetir o procedimento de purificação do ADN com uma nova amostra e uma solução-mãe de proteinase K recentemente preparada. Certificar-se de que a solução de reserva é armazenada a -20°C.
	Os tampões foram preparados incorretamente, foi utilizado álcool errado	Assegurar que a quantidade correta de etanol/isopropanol é adicionada aos tampões e que todas as soluções são armazenadas firmemente fechadas.
	Mistura insuficiente da amostra com a Binding Solution	Misturar corretamente a amostra com uma pipeta antes de a transferir para a membrana do RTA Spin Filter . Utilizar a quantidade correta de Binding Solution
Ácidos nucleicos degradados/ baixo rácio A_{260}/A_{280}	Material de amostra antigo, ciclos repetidos de congelação-descongelação	Evitar a descongelação e a congelação repetidas do material
	Diminuição da atividade da Proteinase K	Ver acima
Os ácidos nucleicos não têm um bom desempenho em aplicações posteriores (por exemplo, PCR em tempo real ou NGS)	Resíduos de etanol no ADN eluído	Verificar o tempo de centrifugação correto. Se necessário, aumentar o tempo de centrifugação para remover o etanol.
	Sal no eluato	Armazenar o Wash Buffer à temperatura ambiente e verificar se existem precipitados de sal. Se existirem precipitados, dissolvê-los aquecendo cuidadosamente a 30°C.
	Sensibilidade reduzida da reação de amplificação	Ajustar o volume/concentração de ADN para a reação de amplificação.

4.2 Garantia

A Invitek Diagnostics garante o funcionamento correto do kit para as aplicações descritas neste manual e de acordo com a utilização prevista. Em conformidade com o Sistema de Gestão da Qualidade da Invitek Diagnostics, certificado pela norma EN ISO 13485, o desempenho de todos os componentes do kit foi testado para garantir a qualidade do produto.

Quaisquer problemas, incidentes ou defeitos devem ser comunicados à Invitek Diagnostics imediatamente assim que forem detetados. Após a receção, inspecione o produto para garantir que está completo e intacto. Em caso de discrepâncias, o utilizador deve informar imediatamente a Invitek Diagnostics por escrito. Modificações no kit e nos protocolos, bem como usos que se desviem do propósito original, não estão cobertos por qualquer garantia.

A Invitek Diagnostics reserva-se o direito de mudar, alterar ou modificar qualquer produto para melhorar o seu desempenho e design em qualquer momento.

A Invitek Diagnostics garante os produtos conforme estabelecido nos Termos e Condições Gerais disponíveis em www.invitek.com. Caso tenha alguma dúvida, contacte techsupport@invitek.com.

4.3 Símbolos utilizados na rotulagem dos produtos e em

	Fabricante
	Número do lote
	Identificador único de um dispositivo médico
	Número de catálogo
	Data de expiração
	Consultar o manual de instruções
	Limitação da temperatura
	Não reutilizar
	Quantidade de preparações de amostras
	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>
	Data de fabrico
	Marcação CE de Conformidade

4.4 Outros documentos e informações complementares

Visite www.invitek.com para obter mais informações sobre:

- FAQs e dicas de resolução de problemas
- Manuais em diferentes línguas
- Fichas de dados de segurança (FDS)
- Apoio Web
- Vídeos de produtos

Se, apesar da leitura atenta do manual de instruções e de outras informações, continuar a necessitar de assistência, contacte-nos através do endereço techsupport@invitek.com ou o revendedor responsável por si.

4.5 Informações para encomenda

Produto	Tamanho da embalagem	N.º de catálogo
PSP® SalivaGene DNA Kit	50 preparações	1035200200
PSP® SalivaGene DNA Kit	250 preparações	1035200300

Para recolha e estabilização de amostras:

Produto	Tamanho da embalagem	N.º de catálogo
SalivaGene Collector	50 unidades	1035211200
SalivaGene Swab Comfort	50 unidades	1035231100

Histórico de revisões

Revisão	Data	Descrição
DE 810.01	2025-04-22	Novo documento



INVITEK
diagnostics

PORTUGAL

Zona Industrial de Tondela, ZIM II, Lote 6
3460-070 Tondela
Portugal

Phone: +351 232 817 817

GERMANY

Haynauer Str. 60, 12249
Berlin, Germany

info@invitek.com
www.invitek.com