

## SERATEC<sup>®</sup> AmylaseTest

REF: AMY, AMY8, AMY/40

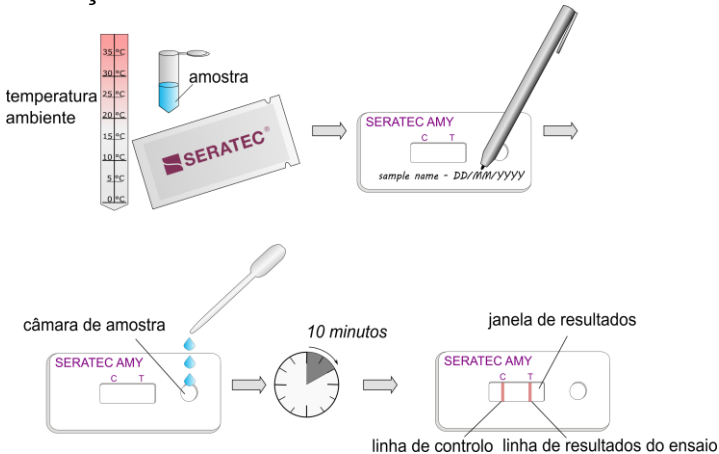
### Aplicação

O SERATEC<sup>®</sup> AmylaseTest é um imunoenensaio cromatográfico para a detecção rápida de  $\alpha$ -amilase humana para a identificação de saliva em amostras forenses. O produto contém dois anticorpos monoclonais anti- $\alpha$ -amilase humana como componentes ativos.

### Materiais

- 8 ou 40 (AMY/8, AMY/40) AmylaseTest embalados individualmente em formato de cassete, cada um com uma pipeta de plástico
  - 15 ou 50 ml (AMY/8, AMY/40) tampão de extração
  - Instruções de utilização
- Também vai precisar de: Cronómetro ou temporizador

### Execução do ensaio



1. Colocar todos os componentes de ensaio à temperatura ambiente antes da execução. Temperaturas baixas podem resultar na redução da sensibilidade.
2. Retirar o cartucho de ensaio do saco de proteção e rotular para identificação.
3. Adicionar 3 gotas da amostra (aprox. 120  $\mu$ l) com a pipeta de plástico fornecida na câmara de amostra e iniciar a medição do tempo.
4. Leitura do resultado do ensaio após 10 minutos à temperatura ambiente. O líquido na câmara de amostra deve ter sido totalmente absorvido.
5. Eliminar o material de amostra residual para, se necessário, realizar mais ensaios.

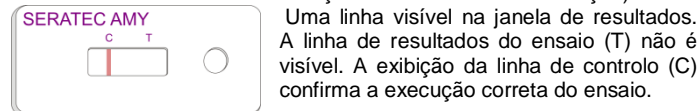
### Interpretação do resultado

Após 10 minutos, na janela de resultados, podem ser legíveis até duas linhas:

**Linha de resultados do ensaio (T):** Apenas visível no caso de amostras positivas de  $\alpha$ -amilase; a intensidade da cor da linha pode variar e depende da concentração de  $\alpha$ -amilase da amostra.

**Linha de controlo (C):** Controlo de eventuais erros de utilização e da integridade dos componentes de ensaio. Esta linha é sempre visível no caso de uma execução bem sucedida do ensaio.

**Resultado negativo** ( $\alpha$ -amilase humana não comprovada; sem  $\alpha$ -amilase na amostra ou concentração abaixo do limite de deteção):



**Resultado positivo** ( $\alpha$ -amilase humana comprovada):



Dois resultados positivos: a linha de resultados do ensaio (T) e a linha de controlo (C). Cada linha T visível (com coloração mais forte ou mais fraca) deve ser considerada como um resultado positivo.

**Resultado inválido** (sem resultado relevante):



Nenhuma linha de controlo (C) visível. Neste caso, o ensaio é inválido e deve ser repetido com um novo cartucho de ensaio.

### Instruções sobre a preparação da amostra

Para obter um resultado de ensaio ideal, aplicam-se as seguintes instruções:

- Não se recomenda a utilização de amostras desconhecidas sem estarem diluídas. As amostras líquidas devem ser diluídas antes da verificação, numa relação de pelo menos 1:100.
- As amostras viscosas devem ser diluídas até que a amostra flua sem problemas na membrana de ensaio.
- Utilize a solução tampão fornecida, uma vez que esta foi especialmente desenvolvida para o AmylaseTest. Outras soluções tampão ou a utilização de água podem provocar uma redução da sensibilidade ou intensidades lineares oscilantes.
- Não utilize líquidos com um valor pH inferior a 3 ou superior a 12, o que pode conduzir a resultados incorretos ou inválidos.
- As partículas de tecido não prejudicam o resultado do ensaio.
- As zaragoatas, os pedaços de tecido ou de preservativos devem ser extraídos numa quantidade suficiente de tampão. O recorte deve ter entre 0,25 e 1 cm<sup>2</sup> e ser extraída em cerca de 0,5 – 1 ml de tampão.
- Recomenda-se um tempo de extração de aprox. 10 minutos. No entanto, aplica-se o seguinte: quanto mais antiga ou pequena a mancha, maior será a duração de extração recomendada.
- As amostras extraídas são estáveis durante cerca de 2 dias à temperatura ambiente. Durante um período mais prolongado, devem ser armazenadas num local seco e frio (2 – 8 °C). As amostras líquidas podem ser congeladas.

### Tampão de extração

O tampão de extração fornecido contém os seguintes componentes (1 l de H<sub>2</sub>O destilada):

8,0 g NaCl ; 0,2 g KCl ; 1,44 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>•2H<sub>2</sub>O ; 0,24 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ; 0,1 ml 10 wt% NaN<sub>3</sub> ; pH 7,4.

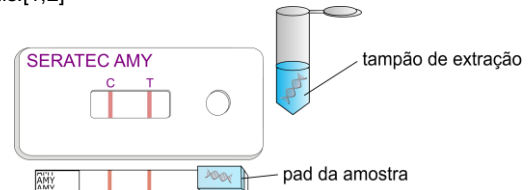
### Outras análises

Antes da utilização do ensaio SERATEC<sup>®</sup> AmylaseTest, recomendamos a utilização do **SERATEC<sup>®</sup> AmylasePaper** como ferramenta de mapeamento para a detecção rápida e preliminar e a localização de saliva em objetos forenses relevantes.

### DNA Profiling

As amostras extraídas podem ser armazenadas para outras análises (por ex., DNA Profiling) (ver preparação da amostra).

A amostra extraída é compatível com análises de ADN. Além disso, é possível obter ADN a partir do pad da amostra para análises adicionais.[1,2]



### Instruções de segurança

As amostras forenses são materiais potencialmente infecciosos, que devem ser analisados com o devido cuidado e apenas com as medidas de proteção adequadas (por ex. luvas, vestuário de laboratório). Os materiais utilizados durante a execução do ensaio devem ser esterilizados automaticamente antes da eliminação, uma vez que contém material potencialmente infeccioso. Devem ter em conta as seguintes instruções:

- Não utilizar o produto em caso de danos.
- Retirar o cartucho de ensaio do saco de proteção apenas imediatamente antes da utilização.
- Não utilizar o produto após o final do prazo de validade.

- Os materiais utilizados no ensaio (por ex. anticorpos) são materiais potencialmente infecciosos. No entanto, em caso de utilização e eliminação corretas, não existe qualquer perigo para o utilizador ou terceiros.
- Não congelar cartucho de ensaio.

## Enquadramento

A enzima  $\alpha$ -amilase destina-se à decomposição de polissacarídeos e está presente em diferentes órgãos e líquidos corporais. A concentração na saliva, bem como no suco pancreático, é especialmente elevada. A  $\alpha$ -amilase presente na saliva (também designada por ptialina) começa primeiro por decompor o amido insolúvel em formas solúveis (amilodextrina, eritrodextrina, acrodextrina) e, de seguida, em maltose.

Existem diferentes métodos para a deteção de saliva em material de amostra forense através da deteção da  $\alpha$ -amilase. Os ensaios de saliva que não detetam diretamente a  $\alpha$ -amilase humana, mas sim a sua atividade (por ex. Phadebas), podem apresentar resultados positivos independentemente da origem da amilase (humana, animal, vegetal). O SERATEC<sup>®</sup> AmylaseTest distingue-se por uma **elevada sensibilidade e especificidade** e oferece as seguintes vantagens para a aplicação forense, através da **deteção de  $\alpha$ -amilase humana como marcador salivar**:

- Manuseamento simples sem equipamento adicional – diretamente no local do crime ou em laboratório.
- Resultado rápido e fiável após 10 minutos.
- Elevada especificidade através da deteção direta de  $\alpha$ -amilase humana (v. especificidade).

**Observação:** Uma vez que a  $\alpha$ -amilase também pode estar presente noutros fluidos corporais e secreções/excreções, por ex. sangue, urina, fezes, líquido seminal ou fluido vaginal, estas amostras podem apresentar um resultado positivo. A diluição de amostra recomendada (v. preparação da amostra) reduz a probabilidade de as amostras que não contêm saliva apresentarem um resultado positivo. É necessário ter em atenção que, devido à deglutição natural da saliva, as fezes contêm amilase salivar. Por isso, as amostras de fezes podem apresentar um resultado positivo. O leite materno contém igualmente  $\alpha$ -amilase e, em grandes concentrações, pode conduzir a um resultado ligeiramente positivo. No geral, a reação do leite materno é cerca de 20 vezes mais fraca do que a da saliva. As amostras de urina pura também podem conduzir a um resultado positivo. No entanto, neste caso, uma diluição de 1:10 já conduz a resultados negativos. Pode encontrar mais informações e recomendações sobre a utilização do SERATEC<sup>®</sup> AmylaseTest na biologia forense, num documento disponibilizado gratuitamente pelo fabricante.[3]

## Sensibilidade

Com a ajuda do SERATEC<sup>®</sup> AmylaseTest, é possível detetar quantidades de, pelo menos, 50 mIU/ml de amilase humana. O **efeito High Dose Hook** não afeta um resultado positivo do ensaio. A saliva humana é detetada com sucesso no intervalo de diluição de 1:1 a 1:10<sup>3</sup> no tampão de extração recomendado.

## Especificidade

O SERATEC<sup>®</sup> AmylaseTest não apresenta qualquer reatividade cruzada com outras proteínas da saliva. Com saliva de diferentes tipos de animais (cão, gato, coelho, cavalo, vaca, porco doméstico, rato, cabra, ovelha, hamster, entre outros), não foi observada qualquer reatividade cruzada. Uma exceção previsível é a saliva de primatas superiores, sobre os quais não existem dados sobre a reatividade cruzada.

## Armazenamento e durabilidade

- Armazenamento das cassetes de ensaio e da solução tampão a +2 a +30 °C.
- Guardar os cartuchos de ensaio no saco de proteção até à utilização.
- Não utilizar após a data de validade indicada.

## Características de qualidade




Os nossos produtos são fabricados de acordo com os padrões de qualidade da norma europeia ISO 9001. As características de desempenho são confirmadas num controlo de qualidade final, aplicando as seguintes normas:  *$\alpha$ -Amylase from human saliva* (Lee Biosolutions, 120-10 ; Sigma Aldrich, A1031).

Para mais informações ou em caso de dúvidas, entre em contacto connosco.

## Literatura

- [1] A. Barbaro, P. Cormaci, S. Votano, A.L. Marca, Evaluation study about the SERATEC<sup>®</sup> rapid tests, Forensic Sci. Int. Genet. Suppl. Ser. 5 (2015) e63–e64. doi:10.1016/j.fsigss.2015.09.025.
- [2] H. Holtkötter, C.R. Dias Filho, K. Schwender, C. Stadler, M. Vennemann, A.C. Pacheco, G. Roca, Forensic differentiation between peripheral and menstrual blood in cases of alleged sexual assault—validating an immunochromatographic multiplex assay for simultaneous detection of human hemoglobin and D-dimer, Int. J. Legal Med. 132 (2018) 683–690. doi:10.1007/s00414-017-1719-y.
- [3] SERATEC GmbH, Evaluation of the SERATEC AmylaseTest.

## Símbolos

|  |                              |
|--|------------------------------|
|   | Data de validade             |
|   | Temperatura de armazenamento |
|  | Número de lote               |