

SERATEC® HemDirect

REF: HBF07, HBF07/8, HBF07/30

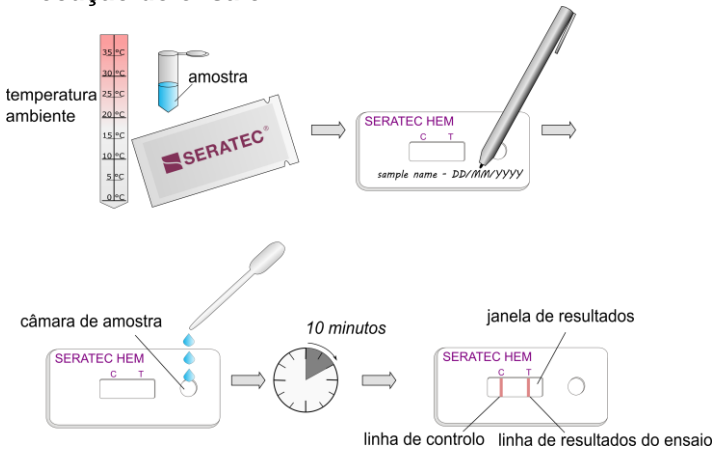
Aplicação

O SERATEC® HemDirect é um imunoenensaio cromatográfico para a detecção rápida de hemoglobina humana (Hb) para a identificação de sangue em amostras forenses. O produto contém dois anticorpos monoclonais anti-Hb humana como componentes ativos.

Materiais

- 8 ou 30 (HBF07/8, HBF07/30) HemDirect embalados individualmente em formato de cassete, cada um com uma pipeta de plástico
 - 8 ou 30 (HBF07/8, HBF07/30) garrafas com 1,5 ml de 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 µl) 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.

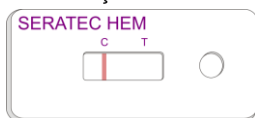
Interpretação do resultado

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 Hb; a intensidade da cor da linha pode variar e depende da concentração de Hb 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 (Hb não comprovada; sem Hb na amostra ou concentração abaixo do limite de deteção):



Uma linha visível na janela de resultados. A linha de resultados do ensaio (T) não é visível. A exibição da linha de controlo (C) confirma a execução correta do ensaio.

Resultado positivo (Hb comprovada):



Duas linhas visíveis na janela de resultados: 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 1:500. Um ponto de referência ótico para uma quantidade adequada de tampão pode ser a coloração da amostra: a coloração visível das amostras de sangue desaparece entre uma diluição de aprox. 1:10³ a 1:10⁴.
- 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 HemDirect. 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.
- A adição de detergentes como SDS, Sarcosyl ou agentes de branqueamento ao material de amostra pode conduzir a resultados incorretos ou inválidos. Isto é provavelmente causado pela desnaturação da Hb.
- 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 cm² e pode ser colocada diretamente no frasco do tampão.
- Em alternativa, o material de amostra pode ser recolhido na tampa do frasco do tampão, com a ajuda do aplicador.
- 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.[1,2]
- 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 H₂O destilada):

12,1 g Tris; 8,8 g Na₃Citrat; 0,2 g NaN₃; 0,5 g Tween 20; 5 g BSA; pH 6,8.

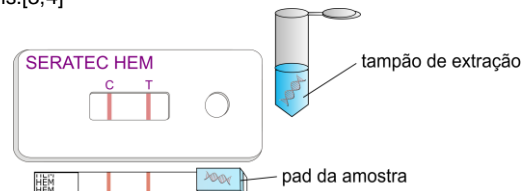
Outras análises

Para uma maior diferenciação de vestígios de sangue, recomendamos a utilização do SERATEC® PMB Test para a deteção de Hb e dímero D para a identificação e diferenciação de sangue periférico e menstrual.

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.[3,4]



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 contêm 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

O pigmento vermelho do sangue Hemoglobina (Hb) é um complexo proteico presente nos glóbulos vermelhos e destina-se sobretudo ao transporte de gases no corpo. Este tem um peso molecular de 64,5 kDa e é composto por 4 subunidades (cadeias de aminoácidos), das quais duas são respetivamente idênticas. Cada subunidade deve ser tratada com um grupo hemático, um complexo de ferro que é responsável pela ligação de oxigénio. Com concentrações de 120-160 mg/ml (mulheres) ou 140-180 mg/ml (homens), a Hb é uma das proteínas mais frequentes no sangue.

Existem diferentes métodos para a deteção de sangue em material de amostra forense através da deteção de Hb. No entanto, muitos métodos de ensaio são inespecíficos em relação à origem (humana ou animal) da amostra. Por isso, são necessários estudos adicionais que por norma não podem ser realizados diretamente no local do crime. O SERATEC[®] HemDirect distingue-se por uma **elevada sensibilidade e especificidade** e oferece as seguintes vantagens para a aplicação forense, através da **deteção de hemoglobina humana como marcador sanguíneo**:

- Manuseamento simples sem equipamento adicional – diretamente no local do crime ou em laboratório.
- Resultado rápido e fiável após 10 minutos.
- Elevada sensibilidade e especificidade através da deteção direta de Hb humana (v. especificidade).
- Elevada estabilidade de Hb; foi possível obter resultados positivos com amostras com 31 anos.[1]

Sensibilidade

Com a ajuda do SERATEC[®] HemDirect, é possível detetar quantidades de, pelo menos, 20 ng/ml de Hb humana. O **efeito High Dose Hook**, no caso de concentrações muito altas de Hb, pode conduzir a uma intensidade linear reduzida, por isso, recomenda-se sempre a diluição de amostras frescas, líquidas (ver preparação da amostra). O sangue humano é comprovado de forma positiva em diluições de cerca de 1:50 a 1:10⁷ no tampão de extração recomendado.

Especificidade

O SERATEC[®] HemDirect não apresenta qualquer reatividade cruzada com outras proteínas no sangue. Com o sangue de diversos tipos de animais (cão, coelho, gato, bovino, porco, javali, cavalo, galinha, ovelha, burro, cabra, veado-vermelho, etc.), não foi observada qualquer reatividade cruzada.[1] O sangue de primatas e furões pode levar a resultados positivos.

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: *human hemoglobin* (Sigma Aldrich, H7379).

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

Literatura

- [1] A. Misencik, D.L. Laux, Validation Study of the Seratec HemDirect Hemoglobin Assay for the Forensic Identification of Human Blood, in: 2007.
- [2] M.N. Hochmeister, B. Budowle, R. Sparkes, O. Rudin, C. Gehrig, M. Thali, L. Schmidt, A. Cordier, R. Dirnhofer, Validation studies of an immunochromatographic 1-step test for the forensic identification of human blood, J. Forensic Sci. 44 (1999) 597–602.
- [3] A. Barbaro, P. Cormaci, S. Votano, A.L. Marca, Evaluation study about the SERATEC[®] rapid tests, Forensic Sci. Int. Genet. Suppl. Ser. 5 (2015) e63–e64. doi:10.1016/j.fsigss.2015.09.025.
- [4] 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.

Símbolos

	Data de validade
	Temperatura de armazenamento
	Número de lote