

SERATEC® PMB Test

REF: PMB, PMB/8, PMB/30

Aplicación

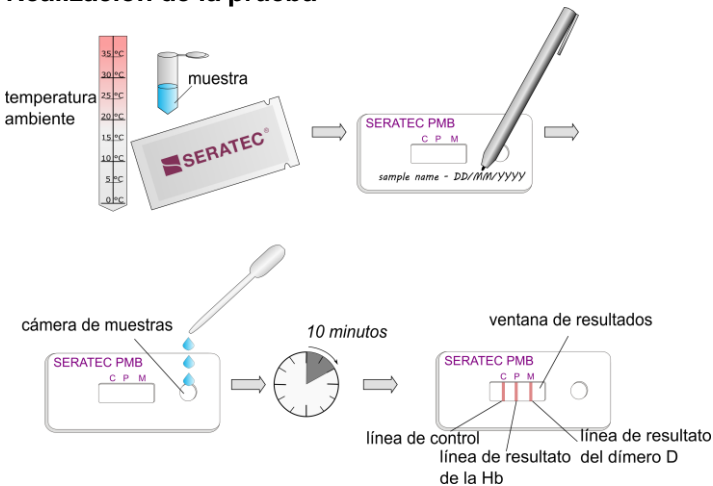
SERATEC® PMB Test es un inmunoensayo cromatográfico para la determinación rápida de la hemoglobina humana (Hb) y del dímero D humano con el objetivo de identificar la sangre periférica y/o la sangre menstrual en las muestras forenses. El producto contiene cuatro anticuerpos monoclonales antihumanos como componentes activos.

Materiales

- 8 o 30 (PMB/8, PMB/30) PMB Test embaladas individualmente en formato de caja con una pipeta de plástico cada una
- 8 o 30 (PMB/8, PMB/30) viales con 1,5 ml de solución tampón de extracción
- Manual de instrucciones

Se requiere adicionalmente: cronómetro o temporizador

Realización de la prueba



1. Tener todos los componentes a temperatura ambiente antes de realizar la prueba. Las bajas temperaturas pueden reducir la sensibilidad.
2. Sacar la caja de prueba de la bolsa protectora y rotularla para su identificación.
3. Colocar 3 gotas de la muestra (aprox. 120 µl) en la cámara de muestras utilizando la pipeta de plástico suministrada y comenzar a contabilizar el tiempo.
4. Consultar los resultados de la prueba una vez transcurridos 10 minutos a temperatura ambiente. El líquido de la cámara de muestras debe haberse absorbido por completo.
5. Conservar el material de muestra restante para realizar otras pruebas en caso de ser necesario.

Interpretación del resultado

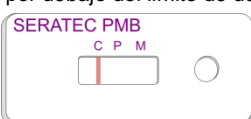
Una vez transcurridos 10 minutos, en el visor del resultado pueden verse hasta tres líneas:

Línea de resultado de la Hb (P): solo visible en las muestras de Hb positivas; la intensidad del color de la línea puede variar y depende de la concentración de Hb en la muestra.

Línea de resultado del dímero D (M): solo visible en las muestras de dímero D positivas; la intensidad del color de la línea puede variar y depende de la concentración de dímero D en la muestra.

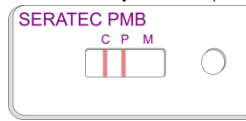
Línea de control (C): control para posibles errores de aplicación y para la integridad de los componentes de la prueba. Esta línea siempre está visible cuando la prueba se ha realizado correctamente.

Resultado negativo (no se puede determinar la presencia de Hb y dímero D; no hay Hb/dímero D en la muestra o su concentración está por debajo del límite de determinación):



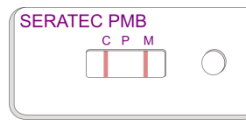
Se ve una línea en el visor del resultado. Las líneas de resultado de la Hb (P) y del dímero D (M) no se ven. La aparición de la línea de control (C) confirma que la prueba se ha realizado correctamente.

Resultado positivo (solo se determina la presencia de Hb):

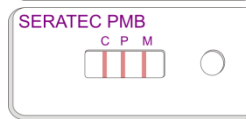


Se ven dos líneas en el visor del resultado: la línea de resultado de la Hb (P) y la línea de control (C). Todas las líneas P visibles (con color más o menos intenso) deben valorarse como resultado positivo.

Positive result (se determina la presencia de dímero D):



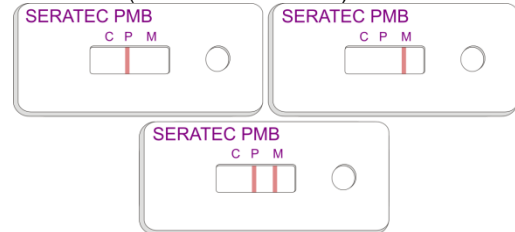
Se ven dos líneas en el visor del resultado: la línea de resultado de la Hb (P) y la línea de resultado del dímero D (M) y la línea de control (C). Todas las líneas P/M visibles (con color más o menos intenso) deben valorarse como resultado positivo.



Nota: En la mayoría de los casos, si se determina la presencia de dímero D, también se prueba la presencia de Hb. En este caso se ven tres líneas en el visor del

resultado: la línea de resultado del dímero D (M), la línea de resultado de la Hb (P) y la línea de control (C).

Resultado no válido (resultado no utilizable):



No se ve la línea de control (C). En este caso la prueba no es válida y debe repetirse con una nueva caja de prueba.

Indicaciones sobre la preparación de la muestra

Para obtener un resultado óptimo en la prueba se deben tener en cuenta las siguientes indicaciones:

- No se recomienda utilizar muestras desconocidas sin diluir. Las muestras líquidas deben diluirse antes de la prueba al menos a una proporción de 1:50.
- Las muestras viscosas deben diluirse hasta que fluyan sin problemas por la membrana de prueba.
- Utilice la solución de amortiguación suministrada, ya que está especialmente desarrollada para el PMB Test. El uso de otras soluciones de amortiguación o de agua puede provocar una reducción de la sensibilidad o variaciones en la intensidad de las líneas.
- No utilice líquidos con un valor pH menor de 3 o mayor de 12, de lo contrario pueden obtenerse resultados incorrectos o no válidos.
- Si se añaden detergentes como SDS (dodecilsulfato sódico), lauril sarcosinato de sodio o agente blanqueador se pueden obtener resultados incorrectos o no válidos. Es probable que ello se deba a la desnaturalización de la Hb / del dímero D.
- Los restos de tejido no afectan al resultado de la prueba.
- Los bastoncillos de algodón y los trozos de material o condón deben extraerse en una cantidad suficiente de solución tampón. El corte debe tener un tamaño de entre 0,25 y 1 cm² y puede añadirse directamente al vial de solución tampón. Alternativamente, el material de la muestra puede colocarse en la tapa del vial de solución tampón con ayuda del aplicador.
- Se recomienda un tiempo de extracción de aprox. 10 minutos. No obstante, se aplica lo siguiente: cuanto más antigua o menor sea la mancha, mayor será la duración de extracción recomendada. [1,2]
- Las muestras extraídas serán estables unos 2 días a temperatura ambiente. Las muestras conservadas durante más tiempo deberán almacenarse en un lugar frío (2-8 °C) y seco. Las muestras líquidas pueden congelarse.

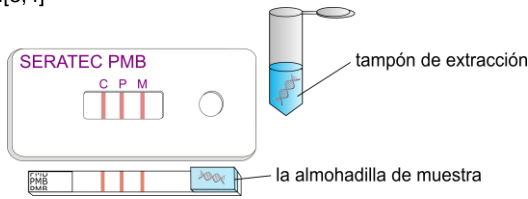
Solución tampón de extracción

La solución tampón de extracción suministrada se compone de lo siguiente (en 1 l de H₂O dest):
12,1 g Tris; 8,8 g Na₃Citrat; 0,2 g NaN₃; 0,5 g Tween 20; 5 g BSA; pH 6,8.

Análisis de ADN

Las muestras extraídas se pueden almacenar (véase la información sobre la preparación de la muestra) para ser utilizadas en otros análisis (por ejemplo análisis de ADN).

La muestra extraída es compatible con los análisis de ADN. Además es posible obtener ADN para otros análisis a partir de la almohadilla de la muestra.[3,4]



Indicaciones de seguridad

Las muestras forenses son un material potencialmente infeccioso que debe analizarse con la correspondiente precaución y tomando las medidas de protección adecuadas (por ejemplo guantes, ropa de laboratorio). Al realizar la prueba, los materiales utilizados deben esterilizarse en autoclave antes de su eliminación, ya que contienen material potencialmente infeccioso. Deben tenerse en cuenta las siguientes indicaciones:

- En caso de daños, no utilizar el producto.
- Retirar la caja de prueba de la bolsa protectora justo antes de su uso.
- No utilizar el producto después de su fecha de vencimiento.
- Los materiales utilizados en la prueba (por ejemplo los anticuerpos) son materiales potencialmente infecciosos. No obstante, si se utilizan y se eliminan de forma adecuada no existe ningún peligro para el usuario ni para otras personas.
- No congelar la caja de prueba.

Trasfondo

La hemoglobina (Hb), el colorante rojo de la sangre, es un complejo proteico presente en los glóbulos rojos y que sirve principalmente para transportar gas por el cuerpo humano. Tiene un peso molecular de 64,5 kDa y se compone de 4 subunidades (cadenas de aminoácidos) de las cuales cada dos son idénticas. Cada subunidad está asociada a un grupo hemo, un complejo de hierro responsable del enlace del oxígeno. Con concentraciones de 120-160 mg/ml (mujeres) y 140-180 mg/ml (hombres), la Hb es una de las proteínas más comunes en la sangre.

Los dímeros D son proteínas que se generan como productos de la degradación de la fibrina durante la fibrinólisis (desintegración de un coágulo de sangre realizada por el cuerpo). El dímero D se llama así porque contiene dos fragmentos D de fibrina entrecruzados. Durante la menstruación se produce un aumento de la fibrinólisis, por lo que la proporción de dímeros D presentes en la sangre menstrual es mayor. No obstante, la concentración en la sangre periférica no aumenta, ya que el proceso de coagulación tiene lugar principalmente de forma extravasal. Por este motivo, los dímeros D son adecuados como marcadores para la identificación de sangre menstrual.[4-7]

La SERATEC® PMB Test **combina la determinación de hemoglobina y dímero D humanos** y permite **identificar la sangre periférica y la sangre menstrual y diferenciarlas entre sí**. La prueba ofrece las siguientes ventajas en el uso forense:

- Manipulación sencilla sin necesidad de equipos adicionales: directamente en el lugar de los hechos o en el laboratorio.
- Obtendrá un resultado rápido y fiable en 10 minutos.
- Sensibilidad y especificidad extremadamente elevadas gracias a la determinación directa de Hb y dímero D humanos (véase la información sobre la especificidad).

Sensibilidad

Con ayuda de la SERATEC® PMB Test pueden determinarse cantidades de al menos 20 ng/ml de Hb humana y de al menos 400 ng/ml de dímero D humano. El **efecto gancho con altas dosis** (High Dose Hook Effect) en concentraciones de Hb muy altas puede reducir la intensidad de la línea (línea P), por lo que se recomienda utilizar siempre una disolución de muestras líquidas recientes (véase la información sobre la preparación de la muestra). La sangre humana se determina de forma correcta en disoluciones de entre 1:50 y 1:10⁷ aproximadamente en la solución tampón de extracción recomendada.

Especificidad

Hemoglobina: la SERATEC® PMB Test no ha mostrado reactividad cruzada con otras proteínas de la sangre. No se ha observado reactividad cruzada con sangre de otras especies animales (perro,

conejo, gato, vaca, cerdo, jabalí, caballo, gallina, oveja, mulo, cabra, ciervo, etc.).[1] Con la sangre de primates y hurones se pueden obtener resultados positivos.

Dímero D: con la SERATEC® PMB Test se puede obtener un falso positivo para sangre menstrual en el caso de que exista una elevada concentración de dímero D en la sangre periférica. Este puede ocurrir, por ejemplo, en caso de trombosis, cicatrización tras una operación, tumores malignos o cirrosis hepática. Los límites de determinación específicos de la prueba y la disolución recomendada de la muestra (véase la información sobre la preparación de la muestra) reducen la probabilidad de que con las muestras que no contengan sangre menstrual se obtenga un resultado positivo.

Almacenamiento y caducidad

- Almacenar las cajas de prueba y la solución de amortiguación a una temperatura de entre +2 y +30 °C.
- Conservar las cajas de prueba en la bolsa protectora hasta su utilización.
- No utilizar los productos después de su fecha de vencimiento.

Características de calidad

Nuestros productos se fabrican de conformidad con los estándares de calidad de la norma europea ISO 9001. Las características de rendimiento se confirman en un control de calidad final utilizando los siguientes estándares: *human hemoglobin* (Sigma Aldrich, H7379); Liquicheck™ D-Dimer Control (Bio-Rad).

Si tiene alguna duda o necesita más información, póngase en contacto con nosotros.

Bibliografía

- [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.
- [5] H.H. Chan, J.A. Johnson, A. Panju, C.A. Bradley, D-Dimer Assay during Menstrual Period., *Blood.* 104 (2004) 4035–4035. <http://www.bloodjournal.org/content/104/11/4035> (accessed June 26, 2019).
- [6] H. Holtkötter, L. Dierig, M. Schürenkamp, U. Sibbing, H. Pfeiffer, M. Vennemann, Validation of an immunochromatographic D-dimer test to presumptively identify menstrual fluid in forensic exhibits, *Int. J. Legal Med.* 129 (2015) 37–41. doi:10.1007/s00414-014-1097-7.
- [7] D.J. Baker, E.A. Grimes, A.J. Hopwood, D-dimer assays for the identification of menstrual blood, *Forensic Sci. Int.* 212 (2011) 210–214. doi:10.1016/j.forsciint.2011.06.013.

Símbolos



Fecha de vencimiento



Temperatura de almacenamiento



Número de lote