

SERATEC® PMB Test

RIF: PMB, PMB/8, PMB/30

Utilizzo

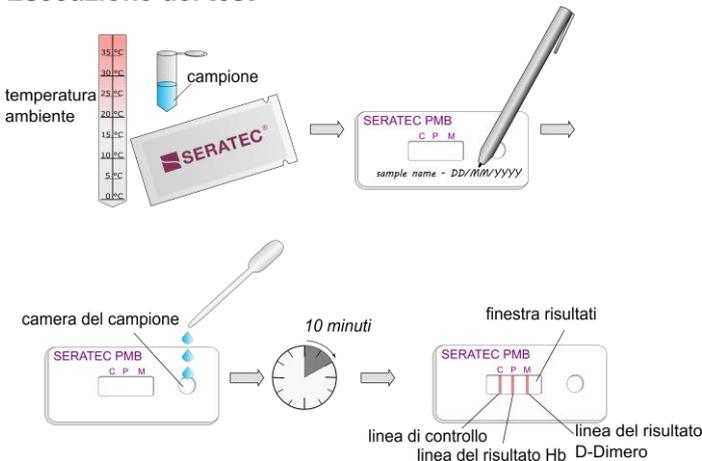
Il SERATEC® PMB Test è un dosaggio immunologico cromatografico per la rapida determinazione di emoglobina umana (Hb) e D-Dimero umano, finalizzata all'identificazione di sangue e/o sangue mestruale in campioni forensi. Il prodotto contiene quattro anticorpi monoclonali Hb anti-umana come componenti attivi.

Materiali

- 8 o 30 (PMB/8, PMB/30) PMB Test confezionati singolarmente in formato cassetta, ciascuno con una pipetta in plastica
- 8 o 30 (PMB/8, PMB/30) boccetta con 1,5 ml tampone di estrazione
- Istruzioni per l'uso

Ulteriormente necessari: Cronometro o timer

Esecuzione del test



1. Prima di eseguire il test, portare tutti i componenti del test a temperatura ambiente. Le basse temperature possono causare un calo della sensibilità.
2. Togliere la cartuccia di test dal suo contenitore di protezione e munirlo di identificazione.
3. Mettere 3 gocce del campione (circa 120 µl) con la pipetta in dotazione nella camera del campione e cominciare il cronometraggio.
4. A temperatura ambiente è possibile leggere il risultato del test dopo 10 minuti. Il liquido nella camera del campione deve essere completamente aspirato.
5. Conservare il campione restante per eseguire eventualmente altri test.

Interpretazione del risultato

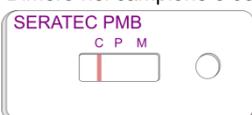
Dopo 10 minuti è possibile leggere nella finestra risultati fino a tre linee:

Linea del risultato Hb (P): visibile solo con campioni positivi per Hb; l'intensità del colore può variare e dipende dalla concentrazione di Hb nel campione.

Linea del risultato D-Dimero (M): visibile solo con campioni positivi per D-Dimero; l'intensità del colore può variare e dipende dalla concentrazione di D-Dimero nel campione.

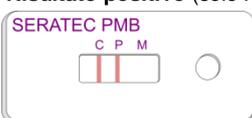
Linea di controllo (C): controllo per possibili errori d'uso e per l'integrità degli elementi del test. Se il test è stato eseguito con successo, questa linea è sempre visibile.

Risultato negativo (Hb e D-Dimero non sono rilevabili; nessuna Hb/D-Dimero nel campione o concentrazione inferiore al limite di rilevolezza):



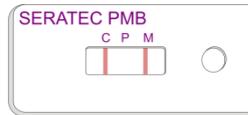
Una linea visibile nella finestra risultati. Le linee del risultato del test (P, M) non sono visibili. La comparsa della linea di controllo (C) conferma che il test è stato eseguito correttamente.

Risultato positivo (solo Hb rilevabile):

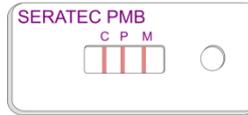


Due linee visibili nella finestra risultati: la linea del risultato Hb (P) e la linea di controllo (C). Qualsiasi linea P visibile (di colore intenso o debole) è da valutare come risultato positivo.

Risultato positivo (D-Dimero rilevabile):

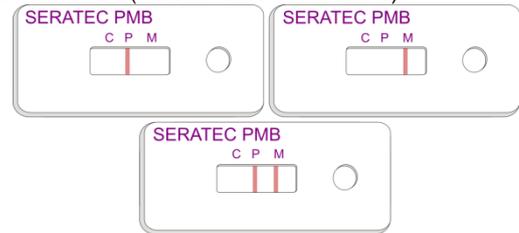


Due linee visibili nella finestra risultati: la linea del risultato D-Dimero (M) e la linea di controllo (C). Qualsiasi linea M visibile (di colore intenso o debole) è da valutare come risultato positivo.



Nota: Nella grande maggioranza dei casi, in caso di riscontro positivo di D-Dimero, è presente anche l'Hb. In tal caso sono visibili tre linee nella finestra risultati: la linea del risultato D-Dimero (M), la linea di risultato Hb (P) e la linea di controllo (C).

Risultato non valido (nessun risultato utilizzabile):



La linea di controllo (C) non appare. In tal caso il test non è valido e deve essere ripetuto con una nuova cartuccia di test.

Indicazioni per la preparazione dei campioni

Per ottenere un risultato ottimale del test attenersi alle seguenti indicazioni:

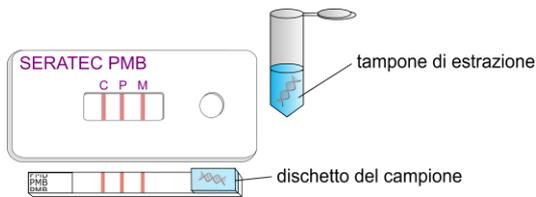
- È sconsigliato l'utilizzo di campioni sconosciuti non diluiti. Campioni liquidi devono essere diluiti per almeno 1:50.
- I campioni viscosi devono essere diluiti fino a quando i campioni scorrono agevolmente sulla membrana del test.
- Utilizzare la soluzione tampone fornita, in quanto è stata sviluppata specificatamente per il PMB Test. Altre soluzioni tampone o l'utilizzo di acqua possono causare una sensibilità ridotta o linee d'intensità non stazionaria.
- Non usare liquidi con valori di pH inferiori a 3 o superiori a 12. Questi possono portare a risultati errati o non validi.
- L'aggiunta di detergenti come SDS, Sarcosyl o candeggiante al campione può causare risultati sbagliati o non validi. Tale circostanza è riconducibile probabilmente alla denaturazione di Hb/D-Dimero
- Particelle di tessuto non influenzano il risultato del test.
- Per estrarre bastoncini di ovatta, pezzi di stoffa o profilattici usare una quantità di tampone sufficiente. I pezzi ritagliati devono avere una dimensione compresa tra 0,25 e 1 cm² e può essere aggiunto direttamente nella boccetta del tampone. In alternativa il campione può essere raccolto servendosi dell'applicatore nel coperchio della boccetta del tampone.
- È consigliato un tempo di estrazione di circa 10 minuti. Vale tuttavia quanto segue: più vecchia o piccola è la macchia, maggiore è il tempo di estrazione consigliato. [1,2]
- A temperatura ambiente i campioni estratti restano stabili per circa 2 giorni. I campioni conservati per un periodo di tempo maggiore devono essere conservati in luogo asciutto e fresco (2 – 8 °C). I campioni liquidi possono essere congelati.

Tampone di estrazione

Il tampone di estrazione fornito contiene i seguenti componenti (in 1 l di H₂O distil.):
12,1 g Tris; 8,8 g Na₃Citrat; 0,2 g NaN₃; 0,5 g Tween 20; 5 g BSA; pH 6,8.

Profilazione DNA

I campioni estratti possono essere conservati per ulteriori analisi (per es. profilazione DNA) (v. Preparazione dei campioni). Il campione estratto è compatibile con le analisi del DNA. Dal dischetto del campione è inoltre possibile ottenere DNA per ulteriori analisi.[3,4]



Indicazioni di sicurezza

I campioni forensi sono un materiale potenzialmente infettivo che deve essere analizzato usando la necessaria attenzione e solo con le idonee misure di protezione (per es. guanti, indumenti da laboratorio). I materiali utilizzati durante l'esecuzione del test devono essere sterilizzati in autoclave prima dello smaltimento in quanto potrebbero contenere materiale potenzialmente infettivo. Osservare le seguenti indicazioni:

- Non utilizzare il prodotto se danneggiato.
- Togliere la cartuccia di test dal suo contenitore di protezione immediatamente prima dell'uso.
- Non usare il prodotto dopo la data di scadenza.
- I materiali del test utilizzati (per es. anticorpi) sono materiali potenzialmente infettivi. Tuttavia, se usati e smaltiti correttamente non sussiste alcun pericolo per gli utenti o altre persone.
- Non congelare la cartuccia di test.

Introduzione

L'emoglobina (Hb) rossa è un complesso proteico presente nei globuli rossi e serve in particolare per il trasporto di gas nel corpo. Ha un peso molecolare di 64,5 kDa ed è composto da 4 subunità (catene di aminoacidi), uguali a due a due. Ciascuna subunità è associata ad un gruppo eme, un complesso del ferro responsabile del legame con l'ossigeno. Con una concentrazione pari a 120-160 mg/ml (donne) o 140-180 mg/ml (uomini), l'Hb è una delle proteine più frequenti nel sangue.

I D-Dimeri sono proteine che si formano come prodotto di degradazione della fibrina durante la fibrinolisi (scioglimento autologo di un coagulo di sangue). Esso contiene due frammenti D della fibrina con legami incrociati e vengono dunque indicati come D-Dimero. Durante le mestruazioni ha luogo un aumento della fibrinolisi che causa un aumento della percentuale di D-Dimeri nel sangue mestruale. La concentrazione nel sangue periferico tuttavia non aumenta in quanto il processo di coagulazione avviene per lo più a livello extravascolare. I D-Dimeri sono pertanto marcatori ideali per il rilevamento di sangue mestruale.[4-7]

Il test SERATEC® PMB **combina la determinazione di emoglobina umana e D-Dimero**, permettendo l'**identificazione e la distinzione tra sangue periferico e sangue mestruale**. Il test offre per le applicazioni forensi i seguenti vantaggi:

- facile utilizzo senza apparecchiature aggiuntive, direttamente sul luogo del reato o in laboratorio.
- risultato veloce e affidabile dopo 10 minuti.
- specificità molto alta grazie alla determinazione di Hb o D-Dimero umano (v. Specificità).

Sensibilità

Con il SERATEC® PMB Test è rilevabile una quantità di almeno 20 ng/ml di Hb umana o di 400 ng/ml di D-Dimero umano. L'**effetto gancio a dose elevata** può causare una riduzione dell'intensità della linea (linea P) in caso di concentrazione di Hb molto alta. Si consiglia pertanto di diluire sempre i campioni liquidi appena raccolti (v. Preparazione dei campioni). Nei tamponi di estrazione consigliati, il sangue umano viene rilevato in diluizioni da circa 1:50 a 1:10⁷.

Specificità

Emoglobina: Il SERATEC® PMB Test non mostra reazioni incrociate con altre proteine nel sangue. Non è stata osservata una reazione incrociata con il sangue di diverse specie animali (cane, coniglio, gatto, bovino, maiale, cinghiale, cavallo, gallina, pecora, mulo, capra, cervo nobile, ecc.).[1] Il sangue di primati e furetti può portare a risultati positivi.

D-Dimero: Il test SERATEC® PMB Test può indicare un risultato positivo errato per sangue mestruale in caso di alta concentrazione di D-Dimero nel sangue periferico. Ciò può accadere per es. in caso di presenza di trombosi, cicatrizzazione postoperatoria, patologie tumorali maligne, cirrosi epatica. I limiti di rilevazione specifici del test e la diluizione consigliata del campione (v. Preparazione dei campioni) riduce la probabilità di risultati dei test positivi in campioni che non contengono sangue mestruale

Conservazione e durata

- Conservare le cassette di test e la soluzione tampone ad una temperatura compresa tra +2 e +30 °C.

- Conservare le cassette di test nel contenitore di protezione fino al suo utilizzo.
- Non utilizzare dopo la data di scadenza indicata.

Caratteristiche qualitative

I nostri prodotti vengono realizzati secondo gli standard qualitativi della normativa europea ISO 9001. Le caratteristiche prestazionali vengono accertate da un controllo qualitativo finale, basato sull'uso del seguente standard: *human hemoglobin* (Sigma Aldrich, H7379); Liquicheck™ D-Dimer Control (Bio-Rad).

Per maggiori informazioni o domande vi preghiamo di contattarci.

Letteratura

- [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.

Simboli

