

## SERATEC® AmylaseTest

REF: AMY, AMY8, AMY/40

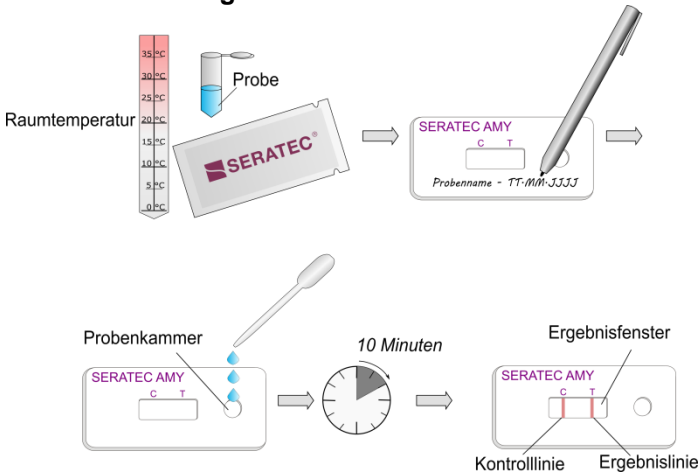
### Anwendung

Der SERATEC® AmylaseTest ist ein chromatographischer Immunoassay für den schnellen Nachweis humaner  $\alpha$ -Amylase zur Identifikation von Speichel in forensischen Proben. Das Produkt enthält zwei monoklonale anti-human- $\alpha$ -Amylase Antikörper als aktive Komponenten.

### Materialien

- 8 (AMY/8) oder 40 (AMY/40) individuell verpackte AmylaseTest im Kassettensformat mit jeweils einer Plastikpipette
  - 15 oder 50 ml (AMY/8, AMY/40) Extraktionspuffer
  - Bedienungsanleitung
- Zusätzlich benötigt: Stoppuhr oder Timer

### Testdurchführung



1. Alle Testkomponenten vor der Durchführung auf Raumtemperatur bringen. Niedrige Temperaturen können zu einer Abnahme der Sensitivität führen.
2. Testkassette aus Schutzbeutel nehmen und zur Identifikation beschriften.
3. 3 Tropfen der Probe (ca. 120  $\mu$ l) mit der beiliegenden Plastikpipette in die Probenkammer geben und Zeitmessung starten.
4. Ablesen des Testergebnisses nach 10 Minuten bei Raumtemperatur. Die Flüssigkeit in der Probenkammer sollte vollständig aufgesogen sein.
5. Verbleibendes Probenmaterial aufheben, um ggf. weitere Testungen durchzuführen.

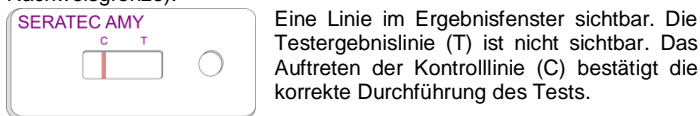
### Ergebnisinterpretation

Nach 10 Minuten können im Ergebnisfenster bis zu zwei Linien ablesbar sein:

**Testergebnislinie (T):** Nur bei  $\alpha$ -Amylase-positiven Proben sichtbar; die Farbintensität der Linie kann variieren und hängt von der  $\alpha$ -Amylase-Konzentration der Probe ab.

**Kontrolllinie (C):** Kontrolle für mögliche Anwendungsfehler und für die Integrität der Testbestandteile. Diese Linie ist bei erfolgreicher Testdurchführung immer sichtbar.

**Negatives Ergebnis** (humane  $\alpha$ -Amylase ist nicht nachweisbar; keine  $\alpha$ -Amylase in der Probe oder Konzentration unterhalb der Nachweisgrenze):



**Positives Ergebnis** (humane  $\alpha$ -Amylase nachweisbar):



Zwei Linien im Ergebnisfenster sichtbar: die Testergebnislinie (T) und die Kontrolllinie (C). Jede sichtbare T-Linie (stark oder schwach gefärbt) ist als positives Ergebnis zu werten.

**Ungültiges Ergebnis** (kein verwertbares Ergebnis):



Keine Kontrolllinie (C) sichtbar. In diesem Fall ist der Test ungültig und sollte mit einer neuen Testkassette wiederholt werden.

### Hinweise zur Probenvorbereitung

Um ein optimales Testergebnis zu erhalten, gelten folgende Hinweise:

- Es wird nicht empfohlen, unbekannte Proben unverdünnt zu verwenden. Flüssige Proben sollten vor der Prüfung mindestens 1:100 verdünnt werden.
- Viskose Proben sollten soweit verdünnt werden, dass die Probe problemlos auf der Testmembran fließt.
- Verwenden Sie die mitgelieferte Pufferlösung, da diese speziell für den AmylaseTest entwickelt ist. Andere Pufferlösungen oder die Verwendung von Wasser können zu einer verringerten Sensitivität oder schwankenden Linienintensitäten führen.
- Verwenden Sie keine Flüssigkeiten mit einem pH-Wert unter 3 oder über 12, dies kann zu falschen oder ungültigen Ergebnissen führen.
- Gewebeteilchen führen zu keiner Beeinträchtigung des Testergebnisses.
- Wattestäbchen, Stoff- oder Kondomstücke sollten in einer ausreichenden Menge Puffer extrahiert werden. Das Schnittstück sollte zwischen 0,25 und 1 cm<sup>2</sup> groß sein und in ca. 0,5 – 1 ml Puffer extrahiert werden.
- Es wird eine Extraktionszeit von ca. 10 Minuten empfohlen. Es gilt jedoch: je älter oder kleiner der Fleck, desto länger ist die empfohlene Extraktionsdauer.
- Extrahierte Proben sind bei Raumtemperatur etwa 2 Tage stabil. Proben, die länger aufbewahrt werden, sollten trocken und kalt (2 – 8 °C) gelagert werden. Flüssige Proben können eingefroren werden.

### Extraktionspuffer

Der mitgelieferte Extraktionspuffer enthält folgende Bestandteile (in 1 l dest. H<sub>2</sub>O):

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 Wert = 7,4.

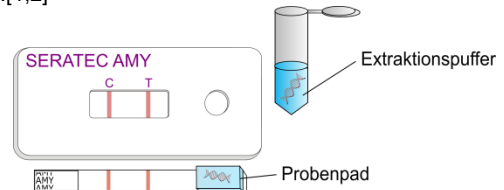
### Weitere Analysen

Wir empfehlen vor der Verwendung des SERATEC® AmylaseTests die Verwendung des **SERATEC® AmylasePaper** als Mapping-Tool für den schnellen, vorläufigen Nachweis und die Lokalisation von Speichel auf forensisch relevanten Objekten.

### DNA Profiling

Die extrahierten Proben können für weitere Analysen (z.B. DNA Profiling) eingelagert werden (s. Probenvorbereitung).

Die extrahierte Probe ist kompatibel mit DNA Analysen. Zudem ist es möglich aus dem Probenpad DNA zur weiteren Analyse zu gewinnen.[1,2]



### Sicherheitshinweise

Bei forensischen Proben handelt es sich um potentiell infektiöses Material, welches mit der entsprechenden Sorgfalt und nur mit geeigneten Schutzmaßnahmen (z.B. Handschuhe, Laborkleidung) untersucht werden sollte. Während der Testdurchführung benutzte Materialien sollten vor der Entsorgung autoklaviert werden, da sie potentiell infektiöses Material enthalten. Zu beachten sind folgende Hinweise:

- Bei Beschädigungen das Produkt nicht verwenden.
- Testkassette erst unmittelbar vor Gebrauch aus dem Schutzbeutel entnehmen.
- Testkassette und Pufferlösung nicht nach Ablauf des Haltbarkeitsdatums verwenden.

- Bei den eingesetzten Materialien des Tests (z.B. Antikörpern) handelt es sich um potentiell infektiöse Materialien. Bei sachgemäßer Verwendung und Entsorgung besteht jedoch keine Gefahr für den Anwender oder Andere.
- Testkassette nicht einfrieren.

## Hintergrund

Das Enzym  $\alpha$ -Amylase dient im Körper dem Abbau von Polysacchariden und kommt in verschiedenen Organen und Körperflüssigkeiten vor. Besonders hoch ist die Konzentration im Speichel sowie der Pankreasflüssigkeit. Die im Speichel vorkommende  $\alpha$ -Amylase (auch Ptyalin genannt) spaltet unlösliche Stärke zunächst in lösliche Formen (Amylodextrin, Erythro-dextrin und Achodextrin) und anschließend weiter zur Maltose.

Es gibt verschiedene Methoden zum Nachweis von Speichel in forensischem Probenmaterial mittels der Detektion von  $\alpha$ -Amylase. Speicheltests die nicht direkt humane  $\alpha$ -Amylase, sondern deren Aktivität (z.B. Phadebas) nachweisen, können positive Ergebnisse ungeachtet der Herkunft der Amylase (human, tierisch, pflanzlich) anzeigen. Der SERATEC<sup>®</sup> AmylaseTest zeichnet sich durch eine **hohe Sensitivität und Spezifität** aus und bietet durch den **Nachweis von humaner  $\alpha$ -Amylase als Marker für Speichel** folgende Vorteile in der forensischen Anwendung:

- Einfache Handhabung ohne zusätzliches Equipment – direkt am Tatort oder im Labor.
- Ein schnelles und zuverlässiges Ergebnis nach 10 Minuten.
- Hohe Spezifität durch den direkten Nachweis von humaner  $\alpha$ -Amylase (s. Spezifität).

**Anmerkung:** Da  $\alpha$ -Amylase auch in anderen Körperflüssigkeiten und Sekreten/Exkreten z. B. Blut, Urin, Stuhl, Samenflüssigkeit, Vaginalsekret vorkommen kann, können diese Proben ein positives Testergebnis zeigen. Die empfohlene Probenverdünnung (s. Probenvorbereitung) verringert die Wahrscheinlichkeit, dass Proben, die keinen Speichel enthalten ein positives Testergebnis zeigen. Es ist zu beachten, dass durch das natürliche Schlucken von Speichel, im Stuhl Speichelamylasen enthalten sind. Stuhlproben können daher ein positives Testergebnis zeigen. Muttermilch enthält ebenfalls  $\alpha$ -Amylase und kann in großen Konzentrationen zu einem schwach positiven Testergebnis führen. Insgesamt reagiert Muttermilch etwa 20fach schwächer als Speichel. Reine Urinproben können auch zu einem positiven Ergebnis führen. Hier führt aber schon eine 1:10 Verdünnung zu negativen Ergebnissen. Weitere Informationen und Empfehlungen für die Verwendung des SERATEC<sup>®</sup> AmylaseTest in der forensischen Biologie sind vom Hersteller in einem frei verfügbaren Dokument zusammen gefasst.[3]

## Sensitivität

Mit Hilfe des SERATEC<sup>®</sup> AmylaseTest sind Mengen von mindestens 50 mIU/ml humaner  $\alpha$ -Amylase nachweisbar. Der **High-Dose-Hook-Effekt** beeinträchtigt ein positives Testergebnis nicht. Menschlicher Speichel wird im Verdünnungsbereich von 1:1 bis 1:10<sup>3</sup> im empfohlenen Extraktionspuffer erfolgreich nachgewiesen.

## Spezifität

Der SERATEC<sup>®</sup> AmylaseTest zeigt keine Kreuzreaktivität mit anderen Speichelproteinen. Mit Speichel diverser Tierspezies (Hund, Katze, Kaninchen, Pferd, Kuh, Hausschwein, Maus, Ziege, Schaaf, Hamster, u.a.) wurde keine Kreuzreaktivität beobachtet. Eine wahrscheinliche Ausnahme stellt der Speichel von höheren Primaten dar, zu welchem keine Daten zur Kreuzreaktivität vorliegen.

## Lagerung und Haltbarkeit

- Lagerung der Testkassetten und der Pufferlösung bei +2 bis +30 °C.
- Testkassetten bis zur Benutzung im Schutzbeutel verwahren.
- Keine Verwendung nach dem angegebenen Haltbarkeitsdatum.

## Qualitätsmerkmale

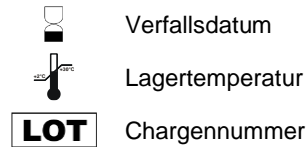
Unsere Produkte werden nach den Qualitätsstandards der europäischen Norm ISO 9001 hergestellt. Die Leistungsmerkmale werden in einer abschließenden Qualitätskontrolle unter Verwendung des folgenden Standards bestätigt:  *$\alpha$ -Amylase aus menschlichem Speichel* (Lee Biosolutions, Kat.-Nr. 120-10 oder Sigma Aldrich, Kat.-Nr. A1031).

Für weitere Informationen oder bei Fragen, nehmen Sie bitte Kontakt zu uns auf.

## Literatur

- [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.

## Symbole



Verfallsdatum

Lagertemperatur

Chargennummer