

## SERATEC® AmylaseTest

REW.: AMY, AMY8, AMY/40

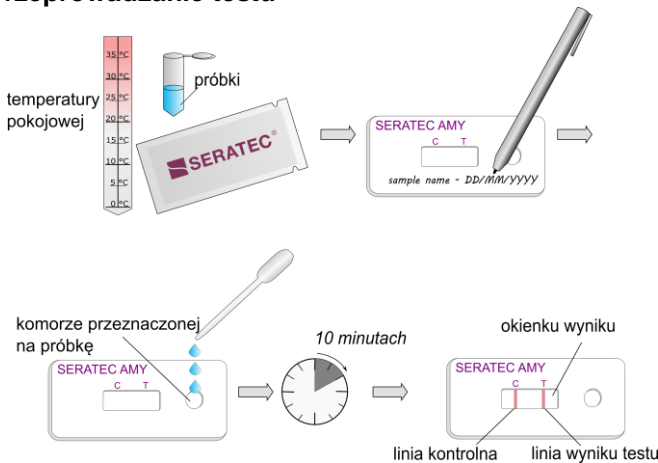
### Zastosowanie

SERATEC® AmylaseTest to chromatograficzny test immunologiczny do szybkiego wykrywania ludzkiej  $\alpha$ -amylazy w celu identyfikacji śliny w próbkach do analizy kryminalistycznej. Produkt zawiera dwa przeciwciała monoklonalne przeciwko ludzkiej  $\alpha$ -amylazie jako składniki aktywne.

### Materiały

- 8 lub 40 (AMY/8, AMY/40) indywidualnie zapakowanych AmylaseTest w formie kasety, każdorazowo z plastikową pipetą
  - 15 lub 50 ml (AMY/8, AMY/40) buforu ekstrakcyjnego
  - Instrukcja obsługi
- Dodatkowo potrzebne: Stoper lub timer

### Przeprowadzanie testu



1. Przed przeprowadzeniem testu wszystkie jego komponenty doprowadzić do temperatury pokojowej. Niskie temperatury mogą prowadzić do obniżenia czułości.
2. Kasetę testu wyjąć z torebki ochronnej i opisać w celach identyfikacyjnych.
3. 3 krople próbki (ok. 120  $\mu$ l) przy użyciu dołączonej plastikowej pipety umieścić w komorze przeznaczony na próbkę i uruchomić odmierzenie czasu.
4. Odczyt wyniku testu po 10 minutach w temperaturze pokojowej. Płyn w komorze przeznaczony na próbkę powinien zostać całkowicie wchłonięty.
5. Pozostały materiał próbki zachować, aby ewentualnie przeprowadzić dalsze testy.

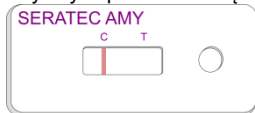
### Interpretacja wyniku

Po 10 minutach w okienku wyniku można odczytać do dwóch linii:

**Linia wyniku testu (T):** Widoczna wyłącznie w przypadku pozytywnych próbek  $\alpha$ -amylazy; Intensywność barwy linii może różnić się i zależy od stężenia  $\alpha$ -amylazy w próbce.

**Linia kontrolna (C):** Kontrola możliwych błędów w zastosowaniu oraz integralności składników testu. Ta linia jest widoczna zawsze w przypadku pomyślnego przeprowadzenia testu.

**Wynik negatywny** (ludzka  $\alpha$ -amylaza jest niewykrywalna; brak  $\alpha$ -amylazy w próbce lub stężenie poniżej granicy wykrywalności):



W okienku wyniku widoczna jest jedna linia. Linia wyniku testu (T) jest niewidoczna. Wystąpienie linii kontrolnej (C) potwierdza prawidłowe przeprowadzenie testu.

**Wynik pozytywny** (ludzka  $\alpha$ -amylaza wykrywalna):



W okienku wyniku testu widoczne są dwie linie: linia wyniku testu (T) i linia kontrolna (C). Każdą widoczną linię T (silnie lub słabo zabarwioną) należy odczytać jako wynik pozytywny.

**Wynik nieważny** (brak użytecznego wyniku):



Brak widocznej linii kontrolnej (C). W tym przypadku test jest nieważny i powinien zostać powtórzony przy użyciu nowej kasety testowej.

### Wskazówki dotyczące przygotowania próbki

Aby uzyskać optymalny wynik, należy przestrzegać następujących wskazówek:

- Nie zaleca się stosowania nierozcieńczonych próbek obcych. Przed badaniem płynne próbki należy rozcieńczyć co najmniej w stosunku 1:100.
- Ciągłe próbki należy rozcieńczyć w takim stopniu, aby próbka bez problemu spłynęła na membranę testową.
- Należy wykorzystać dostarczany roztwór buforowy, ponieważ został on opracowany specjalnie na potrzeby AmylaseTest. Inne roztwory buforowe lub zastosowanie wody może prowadzić do redukcji czułości lub wahań pod względem intensywności linii.
- Nie należy stosować żadnych płynów o współczynniku pH poniżej 3 lub powyżej 12. Może to prowadzić do nieprawidłowych lub nieważnych wyników.
- Cząsteczki tkanki wywierają negatywny wpływ na wynik testu.
- Wymazówki, kawałki materiału lub prezerwatywy powinny zostać wyekstrahowane przy użyciu wystarczającej ilości buforu. Wycięty kawałek powinien mieć wielkość pomiędzy 0,25 a 1  $cm^2$  i należy go wyekstrahować w ok. 0,5 – 1 ml buforu.
- Zaleca się czas ekstrahowania wynoszący ok. 10 minut. Obowiązuje jednak zasada: Im starsza lub mniejsza jest plama, tym dłuższy jest zalecany czas ekstrahowania.
- Wyekstrahowane próbki w temperaturze pokojowej są stabilne przez około 2 dni. Próbki, które są przechowywane dłużej, należy składować w suchym i zimnym miejscu (2 – 8 °C). Płynne próbki można zamrozić.

### Bufor ekstrakcyjny

Dostarczony bufor ekstrakcyjny zawiera następujące składniki (w 1 l  $H_2O$  destylowanej):

8,0 g NaCl; 0,2 g KCl; 1,44 g  $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ ; 0,24 g  $KH_2PO_4$ ; 0,1 ml 10 wt%  $NaN_3$ ; pH 7,4.

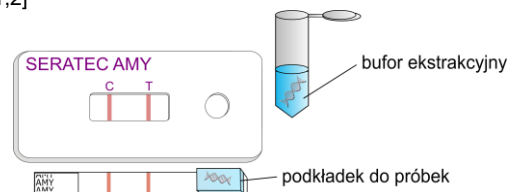
### Dalsze analizy

Przed zastosowaniem SERATEC® AmylaseTest zalecamy zastosowanie **SERATEC® AmylasePaper** jako narzędzia do mapowania w celu szybkiego, tymczasowego wykrycia i lokalizacji śliny na obiektach istotnych z kryminalistycznego punktu widzenia.

### Profilowanie DNA

Wyekstrahowane próbki mogą być przechowywane na potrzeby dalszych analiz (np. profilowanie DNA) (patrz Przygotowanie próbek).

Wyekstrahowana próbka jest kompatybilna z analizami DNA. Ponadto istnieje możliwość pozyskania z podkładek do próbek DNA do dalszej analizy.[1,2]



### Wskazówki bezpieczeństwa

W przypadku próbek kryminalistycznych mamy do czynienia z potencjalnie zakaźnym materiałem, który powinien być badany z zachowaniem odpowiedniej staranności i wyłącznie przy użyciu środków ochronnych (np. rękawiczki, odzież laboratoryjna). Materiały używane w trakcie przeprowadzania testu przed ich usunięciem jako odpadów powinny zostać wysterylizowane w autoklawie, ponieważ zawierają potencjalnie zakaźny materiał. Należy przestrzegać następujących wskazówek:

- Nie używać produktu w przypadku uszkodzeń.

- Kasetę testową wyjąć z torebki ochronnej bezpośrednio przed użyciem.
- Produktu nie używać po upływie daty ważności.
- W przypadku zastosowanych materiałów testu (np. przeciwciała) mamy do czynienia z potencjalnie zakaźnymi materiałami. W przypadku właściwego zastosowania i postępowania z odpadami nie istnieje żadne ryzyko dla użytkownika lub innych osób.
- Nie zamrażać kasety testu.

### Informacje podstawowe

Enzym  $\alpha$ -amylaza służy w organizmie do rozkładu polisacharydów i występuje w różnych organach i płynach ustrojowych. Szczególnie wysoka koncentracja występuje w ślinie, jak również w płynie trzustkowym. Występująca w ślinie  $\alpha$ -amylaza (zwana również pytalina) najpierw rozkłada nierozpuszczalną skrobię do postaci rozpuszczalnych (amylodekstryna, erytrodekstryna i achodekstryna), a następnie do maltozy.

Istnieją różne metody wykrywania śliny w materiale próbek kryminalistycznych poprzez wykrycie  $\alpha$ -amylazy. Testy śliny, które nie wykrywają bezpośrednio ludzkiej  $\alpha$ -amylazy, lecz jej aktywność (np. Phadebas), mogą wskazywać pozytywne wyniki bez względu na pochodzenie amylazy (ludzka, zwierzęca, roślinna). SERATEC<sup>®</sup> AmylaseTest odznacza się **wysokim poziomem czułości i swoistości** i dzięki **wykrywaniu ludzkiej  $\alpha$ -amylazy jako markera śliny** zapewnia następujące korzyści w zastosowaniu w kryminalistyce:

- Łatwa obsługa bez dodatkowego wyposażenia – bezpośrednio w miejscu przestępstwa lub w laboratorium.
- Szybki i niezawodny wynik po 10 minutach.
- Wysoka swoistość dzięki bezpośredniemu wykrywaniu ludzkiej  $\alpha$ -amylazy (patrz Swoistość).

**Uwaga:** Ponieważ  $\alpha$ -amylaza może występować również w innych płynach ustrojowych i wydzielinach /ekskretach np. we krwi, w moczu, kale, płynie nasiennym, wydzielinie pochwowej, próbki te mogą wykazywać pozytywny wynik testu. Zalecane rozcieńczenie próbki (patrz Przygotowanie próbki) redukuje prawdopodobieństwo tego, że próbki, które nie zawierają śliny, wskażą pozytywny wynik testu. Należy mieć na uwadze, że wskutek naturalnego polykania śliny w kale zawarte są amylazy ślinowe. Dlatego też próbki kału mogą wskazywać pozytywny wynik testu. Mleko matki również zawiera  $\alpha$ -amylazę i w wysokich stężeniach może prowadzić do słabo pozytywnego wyniku testu. Łącznie mleko matki reaguje około 20-krotnie słabiej niż ślina. Czyste próbki moczu mogą również prowadzić do pozytywnego wyniku. W tym przypadku jednak już rozcieńczenie w stosunku 1:10 prowadzi do negatywnych wyników. Dalsze informacje i zalecenia dotyczące zastosowania SERATEC<sup>®</sup> AmylaseTest w biologii kryminalistycznej zostały zebrane przez producenta w ogólnie dostępnym dokumencie.[3]

### Czułość

Za pomocą SERATEC<sup>®</sup> AmylaseTest wykrywalne są ilości ludzkiej  $\alpha$ -amylazy wynoszące co najmniej 50 mIU/ml. **Efekt haka przy dużym stężeniu** nie wpływa negatywnie na pozytywny wynik testu. Ludzka ślina skutecznie wykrywalna jest w zalecanym buforze ekstrakcyjnym w zakresie rozcieńczenia od 1:1 do 1:10<sup>3</sup>.

### Swoistość

SERATEC<sup>®</sup> AmylaseTest nie wykazuje reaktywności krzyżowej z innymi białkami ślinowymi. Ze śliną różnych gatunków zwierząt (pies, kot, królik, koń, krowa, świnia domowa, mysz, koza, owca, chomik, itp.) nie zaobserwowano reaktywności krzyżowej. Prawdopodobny wyjątek stanowi ślina wyższych naczelnych, na temat którego nie są dostępne żadne dane dotyczące reaktywności krzyżowej.

### Przechowywanie i data ważności

- Przechowywanie kaset testów i roztworu buforu w temperaturze +2 do +30 °C.
- Kasety testów przechowywać w torebce ochronnej do momentu ich użycia.
- Nie stosować po upływie podanej daty ważności.

### Cechy jakościowe

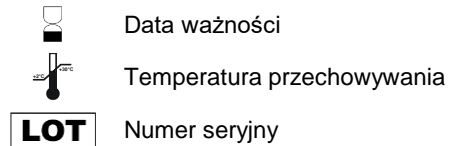
Nasze produkty produkowane są zgodnie ze standardami jakości Normy europejskiej ISO 9001. Właściwości potwierdzone są w trakcie końcowej kontroli jakości poprzez zastosowanie następującego standardu:  *$\alpha$ -Amylase from human saliva* (Lee Biosolutions, 120-10; Sigma Aldrich, A1031).

W celu zasięgnięcia dalszych informacji lub w przypadku pytań prosimy o kontakt.

### 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.

### Symbole



Data ważności

Temperatura przechowywania

Numer seryjny