

SERATEC® PMB Test

RÉF : PMB, PMB/8, PMB/30

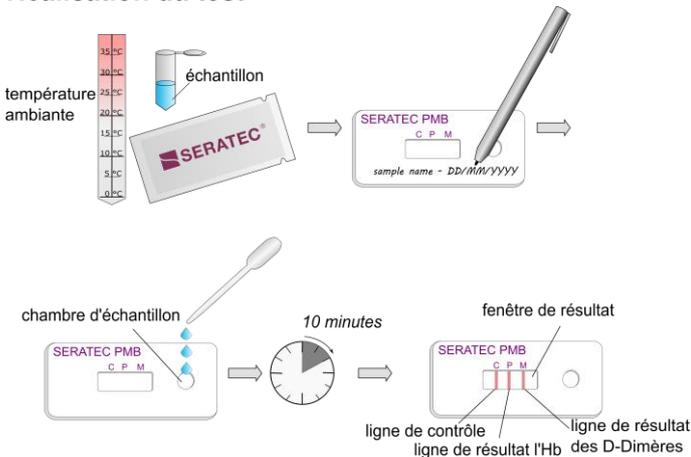
Utilisation

Le SERATEC® PMB Test est un immunoessai chromatographique permettant la détection rapide de l'hémoglobine (Hb) humaine et des D-dimères humains pour l'identification du sang périphérique et/ou du sang menstruel dans des échantillons médico-légaux. Le produit contient quatre anticorps monoclonaux anti-humains en tant que composants actifs.

Matériel

- 8 ou 30 (PMB/8, PMB/30) PMB Test emballés individuellement en format cassette avec une pipette en plastique chacun
 - 8 ou 30 (PMB/8, PMB/30) flacons contenant 1,5 ml de tampon d'extraction
 - Mode d'emploi
- Également nécessaires : chronomètre ou minuteur

Réalisation du test



1. Mettre tous les composants du test à température ambiante avant la réalisation. Les basses températures peuvent entraîner une diminution de la sensibilité.
2. Retirer la cassette de test du sachet de protection et l'étiqueter pour permettre son identification.
3. Ajouter 3 gouttes de l'échantillon (env. 120 µl) dans la chambre d'échantillonnage à l'aide de la pipette en plastique fournie et lancer le chronomètre.
4. Lire le résultat du test après 10 minutes à température ambiante. Le liquide dans la chambre d'échantillonnage doit être totalement absorbé.
5. Conserver le reste de l'échantillon pour éventuellement effectuer d'autres tests.

Interprétation du résultat

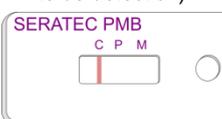
Au bout de 10 minutes, jusqu'à trois lignes peuvent être lues dans la fenêtre de résultat :

Ligne de résultat de l'Hb (P) : uniquement visible sur les échantillons positifs à l'Hb ; l'intensité de la couleur de la ligne peut varier et dépend de la concentration en Hb de l'échantillon.

Ligne de résultat des D-dimères (M) : uniquement visible sur les échantillons positifs à les D-dimères ; l'intensité de la couleur de la ligne peut varier et dépend de la concentration en D-dimères de l'échantillon.

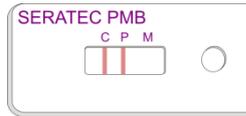
Ligne de contrôle (C) : Contrôle des potentielles erreurs d'utilisation et de l'intégrité des composants du test. Cette ligne est toujours visible si le test a été correctement réalisé.

Résultat négatif (Hb et D-dimères ne sont pas détectables ; pas d'Hb/des D-Dimères dans l'échantillon ou concentration inférieure à la limite de détection) :



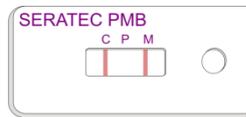
une ligne visible dans la fenêtre de résultat. La lignes de résultat du test (P, M) ne sont pas visibles. L'apparition de la ligne de contrôle (C) confirme que le test a été correctement réalisé.

Résultat positif (seulement Hb détectable) :

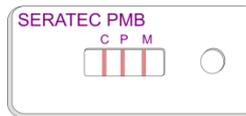


deux lignes visibles dans la fenêtre de résultat : la ligne de résultat de l'Hb (P) et la ligne de contrôle (C). Toute ligne P visible (fortement ou faiblement colorée) doit être considérée comme un résultat positif.

Résultat positif (D-dimères détectables) :

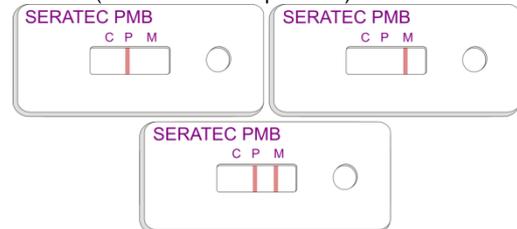


deux lignes visibles dans la fenêtre de résultat : la ligne de résultat des D-dimères (M) et la ligne de contrôle (C). Toute ligne M visible (fortement ou faiblement colorée) doit être considérée comme un résultat positif.



Remarque : Dans la grande majorité des cas, une détection positive de D-dimères indique également la présence d'Hb. Dans ce cas, trois lignes sont visibles dans la fenêtre de résultat : la ligne de résultat des D-dimères (M), la ligne de résultat de l'Hb (P) et la ligne de contrôle (C).

Résultat invalide (aucun résultat exploitable) :



Aucune ligne de contrôle (C) visible. Dans ce cas, le test n'est pas valide et doit être réitéré avec une nouvelle cassette de test.

Indications sur la préparation des échantillons

Afin d'obtenir un résultat de test optimal, il convient de respecter les indications suivantes :

- Il n'est pas recommandé d'utiliser des échantillons inconnus non dilués. Les échantillons liquides doivent être dilués à au moins 1:50 avant le test.
- Les échantillons visqueux doivent être dilués jusqu'à ce que l'échantillon s'écoule sans problème sur la membrane de test.
- Utiliser la solution tampon fournie, car elle a été spécialement développée pour le PMB Test. D'autres solutions tampons ou l'utilisation d'eau peuvent réduire la sensibilité ou faire fluctuer l'intensité des lignes.
- Ne pas utiliser de liquides dont le pH est inférieur à 3 ou supérieur à 12, car cela peut conduire à des résultats faux ou invalides.
- L'ajout de détergents tels que le SDS, le sarcosyl ou l'eau de javel à l'échantillon peut conduire à des résultats faux ou invalides. Ceci est probablement causé par la dénaturation de l'Hb et les D-dimères.
- Les particules tissulaires n'affectent pas le résultat du test.
- Les cotons-tiges ainsi que les morceaux de tissu ou de préservatif doivent être extraits dans une quantité suffisante de tampon. Le morceau découpé doit avoir une taille comprise entre 0,25 et 1 cm² et peut être placé directement dans le flacon tampon. Il est également possible de recueillir les échantillons dans le couvercle du flacon tampon à l'aide de l'applicateur.
- Un temps d'extraction d'environ 10 minutes est recommandé. Cependant, plus la tache est ancienne ou petite, plus le temps d'extraction recommandé est long. [1,2]
- Les échantillons extraits sont stables à température ambiante pendant environ 2 jours. Les échantillons ayant une durée de conservation plus longue doivent être conservés au sec et au froid (2 – 8 °C). Les échantillons liquides peuvent être congelés.

Extraction buffer

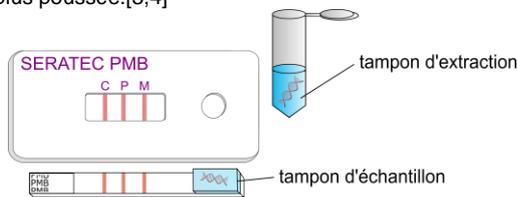
Le tampon d'extraction fourni contient les composants suivants (dans 1 l d'eau distillée) :

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

Empreinte génétique

Les échantillons extraits peuvent être conservés en vue d'effectuer des analyses plus poussées (par exemple une empreinte génétique) (voir préparation des échantillons).

L'échantillon extrait est compatible avec les analyses ADN. Il est également possible d'extraire l'ADN du tampon d'échantillon pour une analyse plus poussée.[3,4]



Consignes de sécurité

Les échantillons médico-légaux sont des matières potentiellement infectieuses qui doivent être analysées avec soin et uniquement avec les mesures de protection appropriées (par exemple gants, vêtements de laboratoire). Les matériaux utilisés pendant le test doivent être stérilisés à l'autoclave avant d'être mis au rebut car ils contiennent des matières potentiellement infectieuses. Les consignes suivantes doivent être respectées :

- Ne pas utiliser le produit s'il est endommagé.
- Ne retirer la cassette de test du sachet de protection qu'immédiatement avant l'utilisation.
- Ne pas utiliser le produit après la date de péremption.
- Les matières utilisées dans le test (par exemple les anticorps) sont des matières potentiellement infectieuses. Cependant, lorsqu'elles sont utilisées et éliminées correctement, il n'y a aucun danger pour l'utilisateur ou d'autres personnes.
- Ne pas congeler la cassette de test.

Contexte

L'hémoglobine (Hb), le pigment sanguin rouge, est un complexe de protéines présent dans les globules rouges et qui sert principalement au transport des gaz dans le corps. Elle a un poids moléculaire de 64,5 kDa et se compose de 4 sous-unités (chaînes d'acides aminés) identiques deux à deux. Chaque sous-unité est associée à un groupe hème, un complexe de fer responsable de la liaison de l'oxygène. Avec des concentrations de 120-160 mg/ml (femmes) ou 140-180 mg/ml (hommes), l'Hb est l'une des protéines les plus communes dans le sang. Les D-dimères sont des protéines formées comme produits de dégradation de la fibrine pendant la fibrinolyse (dissolution d'un caillot de sang par l'organisme lui-même). Ils contiennent deux fragments D réticulés de fibrine, d'où l'appellation « D-dimères ». Pendant les menstruations, la fibrinolyse augmente, ce qui augmente la proportion de D-dimères dans le sang menstruel. Cependant, la concentration dans le sang périphérique n'est pas augmentée car le processus de coagulation est principalement extravasculaire. Les D-dimères peuvent donc servir de marqueurs pour l'identification du sang menstruel.[4-7]

Le SERATEC® PMB Test combine la **détection de l'hémoglobine humaine et des D-dimères humains** et permet l'**identification** ainsi que la **différenciation du sang périphérique et du sang menstruel**. Le test offre les avantages suivants dans les applications médico-légales :

- Manipulation facile sans équipement supplémentaire – directement sur le lieu du crime ou au laboratoire.
- Un résultat rapide et fiable après 10 minutes.
- Sensibilité et spécificité très élevées grâce à la détection directe de l'Hb humaine ou des D-dimères humains (voir spécificité).

Sensibilité

Le SERATEC® PMB Test permet de détecter des quantités d'au moins 20 ng/ml d'Hb humaine ou 400 ng/ml de D-dimères humains. L'**effet crochet à des doses élevées** peut conduire à une réduction de l'intensité de la ligne (ligne P) à des concentrations d'Hb très élevées. Une dilution des échantillons frais et liquides est donc toujours recommandée (voir préparation des échantillons). Le sang humain est détecté positivement dans des dilutions d'environ 1:50 à 1:10⁷ dans le tampon d'extraction recommandé.

Spécificité

Hémoglobine : Le SERATEC® PMB Test ne montre aucune réactivité croisée avec d'autres protéines du sang. Aucune réactivité croisée n'a été observée avec le sang de diverses espèces animales (chien, lapin, chat, bœuf, porc, sanglier, cheval, poule, mouton, mule, chèvre, cerf élaphe, etc.).[1] Le sang de primate et de furet peut donner des résultats positifs.

D-dimères : Le SERATEC® PMB Test peut indiquer un résultat faussement positif pour le sang menstruel à des concentrations élevées de D-dimères dans le sang périphérique. Cela peut se produire, par exemple, en raison de la présence d'une thrombose, d'une cicatrisation postopératoire, d'une tumeur maligne ou d'une cirrhose du foie. Les limites de détection spécifiques au test et la dilution recommandée de l'échantillon (voir préparation des échantillons) réduisent la probabilité que les échantillons ne contenant pas de sang menstruel indiquent un résultat positif.

Stockage et durée de conservation

- Conserver les cassettes de test et la solution tampon entre +2 et +30 °C.
- Conserver les cassettes de test dans un sachet de protection jusqu'à l'utilisation.
- Ne pas utiliser après la date de péremption spécifiée.

Caractéristiques de qualité

Nos produits sont fabriqués selon les standards de qualité de la norme européenne ISO 9001. Les caractéristiques de performance sont confirmées dans un contrôle qualité final en utilisant le standard suivant : *human hemoglobin* (Sigma Aldrich, H7379); Liquicheck™ D-Dimer Control (Bio-Rad).

Pour de plus amples informations ou questions, n'hésitez pas à nous contacter.

Littérature

- [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.

Symboles



Date de péremption



Température de stockage



Numéro de lot