

IN0045

Estado:Definitivo

Fecha Vigor: 14/10/2011

Rev.06

ESTUDIOS PRELIMINARES EN MUESTRAS DE SEMEN

Índice:

1. OBJETO
2. ALCANCE
3. DEFINICIONES
4. DESCRIPCIÓN DE LA INSTRUCCIÓN OPERATIVA
 - 4.1. MATERIALES
 - 4.1.1. Reactivos
 - 4.1.2. Material Fungible
 - 4.1.3. Equipamiento
 - 4.2. PROCEDIMIENTO
 - 4.2.1 Estudio específico de semen (Test de detección de PSA humana)
 - 4.2.1.1. Criterios de aceptación de los resultados
 - 4.2.1.2. Criterios de rechazo de los resultados.
5. FORMATOS
6. REFERENCIAS
7. ANEXOS
8. HISTORIAL DE MODIFICACIONES

1.- Objeto:

Definir la sistemática seguida para la realización de los estudios específicos encaminados a la verificación de la naturaleza seminal humana de las muestras en las cuales así se solicita asegurando la conformidad de los ensayos resultantes con las especificaciones internas.

2.- Alcance:

El presente procedimiento afecta a todos los ensayos que realiza la Sección de Genética Forense de la UPC, en los cuales se solicita el análisis de identificación de muestras que presumiblemente contienen o pueden contener restos seminales.

3.- Definiciones:

No aplicable

4.- Descripción de la instrucción

4.1. MATERIALES

4.1.1 Reactivos

Agua destilada
Placas de detección de antígeno específico de próstata (PSA) humano
Control positivo de semen humano (Listado material de referencia)

4.1.2 Material Fungible

Viales eppendorf de 1,5 ml
Pegatinas circulares de referenciación
Puntas de pipeta con filtro estériles (1000, 200 y 10 µl)
Guantes estériles desechables
Rotulador indeleble

4.1.3 Equipamiento

Cabina de seguridad biológica GF010
Agitador GF043
Pipetas de 50-1000, 20-200 y 1-10 µl
Placa de pocillos de porcelana
Centrifugadora para viales GF021

4.2. PROCEDIMIENTO

Se recortará un fragmento de la muestra remitida susceptible de contener restos seminales, tomándose una pequeña parte para realizar la prueba.

4.2.1 Estudio específico de semen (Test de detección de PSA humana)

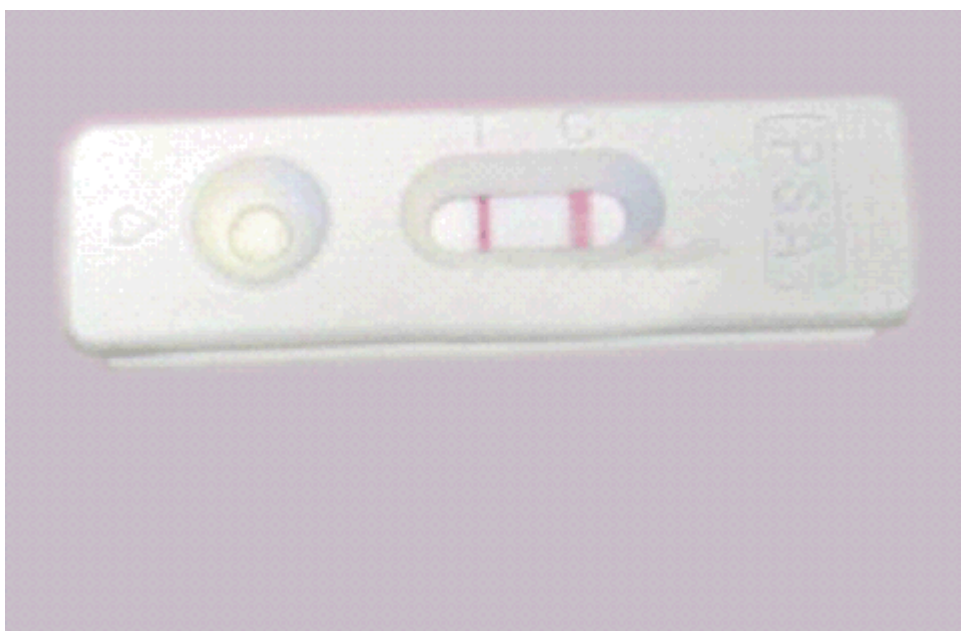
En 1966 se identificó una proteína específica de próstata en el líquido seminal y se la denominó γ -seminoproteína. En 1978, se purificó del líquido seminal una proteína específica de próstata (p30). Un año más tarde se descubrió un antígeno prostático (E1) en cáncer de próstata y se empezó a pensar que quizás estas tres proteínas fueran la misma, lo cual se demostró en 1992 al comprobar que todas ellas tenían la misma secuencia aminoacídica (240 aminoácidos) y estaban codificadas por el mismo gen.

El antígeno específico de próstata, también conocido como PSA o proteína P30, es una glicoproteína producida en las glándulas prostáticas y secretada en el plasma seminal.

El método más común de uso es el más sensible y puede detectar PSA en fluidos orgánicos a concentraciones tan bajas como 4 ng/ml. Es una prueba semicuantitativa. El test está basado en la reacción entre un antígeno (PSA) y un anticuerpo monoclonal marcado. El complejo que se forma migra a través de una membrana por capilaridad y reacciona con un segundo anticuerpo policlonal también fijado en la membrana desarrollando en ésta una línea coloreada si la muestra contiene PSA.

Es una prueba muy rápida, muy fácil de realizar y según describen los distintos estudios es positiva si la toma de muestra se ha hecho entre 13 y 47 horas después del coito y la proteína permanece estable en manchas más de 30 años a temperatura ambiente.

Estos tests de membrana para PSA pueden ser usados para identificar fluido seminal en casos forenses, pero estos kits pueden detectar actividad antigénica PSA no sólo en semen sino también en orina de varones mayores de 12 años. Es más, también se ha detectado PSA en orina de mujeres y tras tomar contraceptivos orales. PSA además de encontrarse en el fluido seminal y prostático también puede encontrarse en el suero, orina y leche materna.



El procedimiento usado para este estudio específico del semen parte de la muestra del fragmento anteriormente seleccionado. Ésta se introduce en un vial etiquetado, diluyéndose con agua destilada (aproximadamente 400 μ l durante 2 horas) a temperatura ambiente.

Transcurridas las dos horas, mediante una aguja hipodérmica, se realiza un agujero en la parte inferior y superior del vial y se introduce éste en otro vial, centrifugándose ambos durante 3 minutos a unas 9.000 revoluciones por minuto (rpm).

En el líquido seminal es posible detectar PSA en una dilución de 1/1.000.000. Para realizar la prueba se diluyen de 20 a 100 μ l del macerado (según la intensidad del viraje en la prueba de la

fosfatasa ácida) en agua destilada para conseguir un volumen final de $200 \pm 20 \mu\text{l}$, los cuales se depositan en la placa de reacción inmunocromatográfica. Si al cabo del tiempo aparecen dos franjas azules en el display de la placa (franja control y franja de reacción positiva) el resultado se considera positivo.

4.2.1.1 Criterios de aceptación de los resultados

Positivo (P): Aparición de dos franjas azules en la placa (franja control y franja de reacción positiva) en 2-3 min.

Negativo (N): Aparición de una sola franja azul (control) en 10 min.

No concluyente (NC): Aparición de la segunda franja (franja de reacción) débil pasados los 3 min.

Los resultados obtenidos se anotarán en el [FM0083](#), así como se archivarán todos los registros primarios generados.

4.2.1.2 Criterios de rechazo de los resultados

Cuando no se produzca la franja de control en 2-3 min., la prueba se cofirmará como no válida y deberá de repetirse con una nueva placa.

Cuando el resultado sea no concluyente (franja débil) se repetirá la prueba.

Independientemente del resultado obtenido se continuará con la extracción si fuese susceptible de presentar restos orgánicos, por su localización, aspecto o circunstancias del caso.

5.- Formatos:

| Código | Denominación |
|------------------------|---|
| FM0083 | Análisis preliminares de muestras seminales |

6.- Referencias:

Gutman and Gutman. An "acid" phosphatase occurring in the serum of patients with metastasizing carcinoma of the prostate gland. J Clin Invest 17: 473-478 (1938).

- Kaye S. Identification of seminal stains. J Crim Law Criminol 38: 79-83 (1947).
- Sensabaugh GF. Isolation and characterization of a semen-specific protein from human seminal plasma: A potential new marker for semen identification. J Forensic Sci 23: 106-115 (1978).
- Wang et al. Purification of a human prostate specific antigen", Invest Urol 17: 159-163 (1979).
- Herr and Woodward. An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for human semen identification based on a biotinylated monoclonal antibody to a seminal vesicle-specific antigen. J Forensic Sci 32: 346-356 (1987).
- Stoilovic M. Detection of semen and blood stains using polilight as a light source. Forensic Sci Int 51(2): 289-296 (1991).
- Sokoll and Chan. Prostate-specific antigen. Its discovery and biochemical characteristics. Urol Clin North Am 24: 253-259 (1997).
- Hochmeister et al. Evaluation of prostate-specific antigen (PSA) membrane test assays for the forensic identification of seminal fluid. J Forensic Sci 44: 1057-1060 (1999).
- Wawryk and Odell. Fluorescent identification of biological and other stains on skin by the use of alternative light sources. J Clin Forensic Med 12(6): 296-301 (2005).

7.- Anexos:

8.- Historial de modificaciones:

| Nº revisión | Descripción de la modificación | Fecha modif. |
|-------------|--------------------------------|--------------|
| | | |

| | | |
|----|--|------------|
| 00 | Edición inicial | 22/12/2006 |
| 01 | Añadir punto 3 y modificar tecnicismos | 26/06/2007 |
| 02 | Modificar criterios | 14/03/2008 |
| 03 | Incluir archivo de registros primarios en los apartados 4.2.1.1 y 4.2.2.1. Modificar índice incluyendo los criterios de aceptación y rechazos | 07/07/2008 |
| 04 | Adaptar el procedimiento a la nueva estructura del Departamento de Interior creada por el Decreto 471/2009, de 28 de agosto, sobre estructura orgánica y funcional del Departamento de Interior. | 23/02/2010 |
| 05 | Eliminar del Procedimiento el estudio genérico de semen (Prueba de la fosfatasa ácida), punto 4.2.1 | 17/02/2011 |
| 06 | Adaptar el procedimiento a la nueva estructura del Departamento de Interior creada por Orden 17 de junio de 2011 sobre estructura orgánica y funcional del Departamento de Interior. | 04/10/2011 |

Elaborado:**Revisado:****Aprobado:**

Jefe de la Sección de Genética Forense

Jefe/a de la Ertzaintza

Viceconsejera/Viceconsejero de Seguridad

Fecha:**Fecha:****Fecha:**

04/10/2011

13/10/2011

14/10/2011

