

IN0044

Estado:Definitivo

Fecha Vigor: 14/10/2011

Rev.06

ESTUDIOS PRELIMINARES EN MUESTRAS DE SANGRE

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 sangre (Test de detección de hemoglobina humana. OBTI
 - 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 comprobación de la naturaleza sanguínea humana de las muestras a analizar.

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 puedan contener restos sanguíneos.

3.- Definiciones:

No aplicable

4.- Descripción de la instrucción

4.1. MATERIALES

4.1.1. Reactivos

Agua destilada

Placas detección de hemoglobina humana OBTI

Control positivo de sangre humana (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 y 200 µl)

Guantes estériles desechables

Rotulador indeleble

4.1.3. Equipamiento

Cabina de seguridad biológica (GF010)

Placa de pocillos de porcelana

Máquina fotográfica (GF061)

Pipetas de 20-200 y 50-1000 µl

4.2. PROCEDIMIENTO

Cuando durante el proceso de estudio de las muestras se pretenda determinar que los restos biológicos presentes en las mismas corresponden a sangre humana.

4.2.1. Estudio específico de sangre (Test de detección de hemoglobina humana. OBTI)

Es un diagnóstico específico que detecta la presencia de hemoglobina humana en una muestra mediante el uso de un anticuerpo monoclonal específico antihemoglobina humana en un proceso inmunocromatográfico.

Un eluido de la muestra a considerar se deposita en la placa suministrada comercialmente. Si la muestra a analizar contiene hemoglobina humana, ésta se une a partículas coloreadas de azul y a un anticuerpo monoclonal antihemoglobina humana. Este inmunocomplejo migra hacia un segundo anticuerpo antihemoglobina humano inmovilizado formando una línea azul que indica un resultado positivo. La muestra continua migrando y más adelante se une a otro anticuerpo inmovilizado, en este caso, antiinmunoglobulina C de ratón. Esta segunda línea funciona como control e indica una correcta utilización del test.



El método usado actualmente (OBTI) tiene un límite de detección de $> 0,05 \mu\text{g/ml}$ (concentraciones de 1:1000000 ó una cantidad igual o superior a unos 500 glóbulos rojos) y permite detectar los diferentes subtipos de hemoglobina humana. Se han observado resultados positivos también al analizar hemoglobina de primate, hurón y mofeta

El protocolo a seguir es:

Introducir un fragmento de la muestra en un vial

Verter en el interior del vial con el fragmento correspondiente, aproximadamente 0,5 ml de agua destilada y dejar macerar un mínimo de 30 minutos

Referenciar una placa de detección de hemoglobina humana

De la dilución arriba citada, se toman aproximadamente 100 μl depositándose en la placa de reacción

Al comienzo de cada lote de placas de reacción OBTI se realizará una prueba con sangre de referencia (control positivo) y otra con agua destilada (control negativo)

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 [FM0082](#), 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 confirmará 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
FM0082	Análisis preliminar de muestras sanguíneas

6.- Referencias:

- Culliford BJ. The examination and typing of bloodstains in the crime laboratory. US Department of Justice, Washington DC, páginas 44-59 (1971)
- Cox MA. Study of the sensitivity and specificity of four presumptive test for blood. Journal of Forensic Sciences 36(5): 1503-1511 (1991)
- Hochmeister et al. Validation studies o an immunochromatographic 1-step test for the forensic identification of human blood. Journal of Forensic Sciences 44(3): 597-601 (1999)
- Rowley BO. Commentary on Hochmeister et al. Validation studies of an immunochromatographic 1-step test for the forensic identification of human blood. Journal of Forensic Sciences 44(3): 597-601 (1999). Journal of Forensic Sciences 44(6): 1323 (1999).
- Hermon et al. The use of the Hexagon OBTI test for detection of human blood at crime scenes and on items of evidence. Part I: Validation studies and implementation. Journal of Forensic Identification 53 (5): 566-575 (2003)

7.- Anexos:

8.- Historial de modificaciones:

Nº revisión	Descripción de la modificación	Fecha modif.
00	Edición inicial	22/12/2006
01	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.	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 sangre (test de Adler), punto 4.2.1.	17/02/2011
06	Adaptar el procedimiento a la nueva estructura del Departamento de Interior creada por el orden 17 de junio de 2011, sobre estructura orgánica y funcional del Departamento de Interior.	04/10/2011

Elaborado: Jefe de la Sección de Genética Forense
Revisado: Jefe/a de la Ertzaintza
Aprobado: Viceconsejera/Viceconsejero de Seguridad

Fecha: 04/10/2011
Fecha: 13/10/2011
Fecha: 14/10/2011

