مقاله پژوهشی

بررسی حساسیت و ویژگی تست اسید فسفاتاز و آنتی‌ژن اختصاصی پروستات آنتی‌ژن P30 یا PSA در تشخیص مایع منی در نمونه‌های سوآپ واژینال

احمدرضا نگهبانی* - دکتر آرش قدوسی - دکتر گیتا منتظری*** - دکتر مسعود قادی پاشا****

* کارشناس ارشد سم‌شناسی، اداره کل پزشکی قانونی اصفهان

** متخصص پزشکی قانونی، استادیار دانشگاه آزاد اسلامی (واحد خوراسگان)

*** پزشک عمومی، اداره کل پزشکی قانونی اصفهان

**** متخصص پزشکی قانونی، استادیار سازمان پزشکی قانونی کشور

چکیده

زمینه و هدف: بررسی وجود یا عدم وجود مایع منی در نمونه‌های ارسالی به آزمایشگاه‌های پزشکی قانونی با آزمایش‌هایی از قبیل تلاش برای یافتن اسپرم، آزمون فعالیت آنزیم اسید فسفاتاز (AP)، آنتی‌ژن اختصاصی پروستات (PSA، P30) انجام می گیرد. در این میان تست‌های اسیدفسفاتاز و PSA بیشترین کاربرد را دارند. در مطالعه حاضر، حساسیت و ویژگی این دو تست مورد بررسی قرار گرفته و با یکدیگر مقایسه شده است.

روش بررسی: مطالعه حاضر شامل دو بخش است. در بخش اول مطالعه، از ۵۲ نفر از بانوانی که به منظور انجام تست بعد از مقاربت (post coital test) به یک کلینیک ناباروری مراجعه کرده بودند، نمونه‌های سوآپ واژن تهیه گردید (گروه کنترل مثبت). به طور مشابه، از ۵۸ نفر از بانوانی که طی یک هفته گذشته تماس جنسی نداشته‌اند نیز نمونه‌برداری انجام گرفت (گروه کنترل منفی). پس از خشک شدن سوآپ‌های گرفته شده و ارسال آن به آزمایشگاه و به منظور تجسس مایع منی در نمونه های تهیه شده، آزمون‌های اسید فسفاتاز و PSA برای هر نمونه بطور جداگانه انجام و نتایج مورد مقایسه قرار گرفت. در بخش دوم تحقیق، در ۷۹ مورد از نمونه‌های سوآپ واژینال ارسالی به آزمایشگاه پزشکی قانونی که وجود یا عدم وجود مایع منی در آنها مشخص نبود نیز آزمون‌های مشابهی به عمل آمد.

یافته‌ها: یافته‌های مطالعه حاکی از حساسیت و ویژگی بسیار بالای تست PSA در تشخیص وجود یا عدم وجود مایع منی در نمونه‌ها بود. در مورد تست اسید فسفاتاز نیمه کمی (خوانش نتیجه رأس دو دقیقه پس از اضافه کردن سوبسترا)، میزان حساسیت روش ۸۸/٤٪ و ویژگی آن ۷٤/۱٪ تعیین گردید. این دو پارامتر برای روش اسید فسفاتاز کیفی (خوانش نتیجه رأس پنج دقیقه پس از اضافه کردن سوبسترا)، ۹۸٪ (حساسیت) و ۵/۱٪ (ویژگی) تعیین گردید.

نتیجه‌گیری: استفاده از تست اسید فسفاتاز نیمه کمی، به علت حساسیت نسبتاً زیاد (۸۸/٤٪) و ویژگی نسبتاً کم آن (۷٤/۱٪) به عنوان یک نشانگر زیستی فرضی (presumptive) در تشخیص مایع منی به کار رفته و لازم است به منظور جلوگیری از گزارش موارد مثبت و منفی کاذب، نتایج حاصله با روش دیگری که حساسیت و ویژگی بالاتری داشته باشد مورد تأیید قرار گیرد. با توجه به یافته‌های این تحقیق و همچنین کارآیی اثبات شده برای تست PSA به عنوان یک نشانگر زیستی تأییدی (definitive)در تشخیص مایع منی، استفاده از این آنتی‌ژن در آزمایشگاه‌های سازمان پزشکی قانونی کشور به منظور تایید نتایج تست اسید فسفاتاز نیمه‌کمی، توصیه می‌شود.

واژگان کلیدی: اسید فسفاتاز، آنتی‌ژن اختصاصی پروستات، پزشکی قانونی

وصول مقاله: ۸۵/۱۰/۲۷ پذیرش مقاله: ۸۶/۲/۵

نویسنده پاسخگو: اصفهان- فلکه فیض- اداره کل پزشکی قانونی اصفهان Negahbaniahmadreza@yahoo.com

مقدمه

تشخیص وجود یا عدم وجود مایع منی یکی از آزمایش‌های روزمره در مراکز پزشکی قانونی است. روش‌های معمول شامل تلاش برای یافتن اسپرم با رنگ‌آمیزی سیتولوژی، یا بدون رنگ‌آمیزی سیتولوژی با استفاده از میکروسکوپ فازکنتراست (در هر دو روش مذکور امکان یافتن اسپرم در موارد آزواسپرمی و یا وازکتومی وجود ندارد) و یا استفاده از نشانگرهای زیستی (bio marker)مایع منی می‌باشد این نشانگرها شامل آنزیم اسید فسفاتاز (AP)، آنتی‌ژن اختصاصی پروستات (PSA, P30) ، Y STR و سمینوژلین می‌باشد (۱). در این میان تست اسیدفسفاتاز و آنتی‌ژن اختصاصی پروستات به عنوان نشانگر زیستی مایع منی کاربرد زیادی دارد.

اسید فسفاتاز آنزیمی است که از غده پروستات ترشح می‌شود و با غلظت زیاد در مایع منی وجود دارد ولی در سایر مایعات بیولوژیک از جمله ترشحات واژن نیز دیده می‌شود - حدود یک بیستم مقداری که در مایع منی وجود دارد- (۳، ۲).

از آنجا که با انجام روش‌های شیمیایی اندازه‌گیری آنزیم‌ها (روش‌های معمول) تمایز بین اسید فسفاتاز پروستاتی و اسیدفسفاتاز واژینال غیرممکن است، کاربرد این آنزیم به عنوان نشانگر زیستی اختصاصی مایع منی امکان‌پذیر نیست و علیرغم داشتن حساسیت بالا، یک تست فرضی (presumptive) در بررسی‌های آزمایشگاهی تجاوز جنسی محسوب می‌شود.

به علاوه پایداری این آنزیم نیز زیاد نیست و بیشترین غلظت را در نمونه‌های اخذ شده از ترشحات واژن پس از فعالیت جنسی در ۱۲ ساعت اول دارد که به تدریج ظرف ۴۸ تا ۷۲ ساعت از بین می‌رود. همچنین به دلیل ساختار آسیب‌پذیر خود ممکن است تحت شرایطی عملکردش را از دست بدهد و باعث جواب‌های منفی کاذب شود (ماندگی نمونه‌ها، فساد باکتریایی، حرارت بیش از حد، تغییرات PH، تأثیر مواد شیمیایی و موارد دیگر) (۵، ۴)؛ بنابراین تست اسید فسفاتاز برای نمونه‌هایی از تجاوز اخیر کاربرد دارد و باید با تست دیگری اثبات شود.

در جستجو برای یافتن نشانگری که برای مایع منی اختصاصی باشد و دارای حساسیت و ویژگی قابل قبول باشد، پژوهشگران به بررسی آنتی‌ژن اختصاصی پروستات (PSA یا P30) پرداختند. این آنتی‌ژن در سال ۱۹۷۸ کشف شد (۳، ۲).

PSA از نظر ساختمانی، گلیکوپروتئینی با وزن مولکولی ۳۰،۰۰۰ دالتون است که شامل ۹۳٪ پروتئینی و ۷٪ کربوهیدرات است و از نظر عملکردی، PSA یک سرین پروتئاز شبه کالیکرئین[1] است و به طور عمده توسط سلول‌های اپی‌تلیال غده پروستات ترشح می‌شود و نقش فیزیولوژیک آن تجزیه پروتئین‌هایی است که از وزیکول سمینال ترشح می‌شود (شامل سمینوژلین[2] I, II و فیبرونکتین) که باعث آبکی شدن مایع منی (liquification) و افزایش تحرک اسپرم‌ها است (۷، ۶).

افزایش PSA در سرم در هیپرپلازی خوش‌خیم پروستات و تومورهای پروستات دیده می‌شود (۶) ولی آنچه در پزشکی قانونی کاربرد دارد، آنست که این آنتی‌ژن در مایع منی (حتی پس از وازکتومی یا موارد آزواسپرمی) و ادرار مردان (حتی پسرهای ۱۲ تا ۱۴ ساله) دیده می‌شود (۸). این آنتی‌ژن در حالت طبیعی در هیچ یک از مایعات بدن زنان وجود ندارد (۳). همچنین استفاده از این آنتی‌ژن در تمایز میان مایع منی انسان و حیوان کمک کننده می‌باشد زیرا این آنتی‌ژن در حیوانات وجود ندارد (۱۱).

از لحاظ ماندگاری، PSA در نمونه‌های واژینال پس از تجاوز بطور متوسط تا ۲۷ ساعت یافت شده (محدوده ۱۳ تا ۴۷ ساعت) که در مقایسه با اسید فسفاتاز که بطور متوسط تا ۱۴ ساعت پس از تجاوز قابل کشف است (محدوده ۸ تا ۲۴ ساعت) ارزش بیشتری دارد (۳).

در تحقیقات Graves و همکاران نشان داده شد که بسیاری از نمونه‌ها که از نظر اسید فسفاتاز منفی بود از نظر PSA مثبت بوده است (۲). منابع دیگر، به ماندگاری بیشتر این آنتی‌ژن اعتقاد دارند تا جاییکه در نمونه‌هایی که بیش از ۴۸ ساعت از زمان خروج منی اخذ می‌شود، PSA از اسید فسفاتاز قابل اعتمادتر است (۱۰).

با توجه به این خصوصیات بود که از ۲۱ سال قبل یعنی از سال ۱۹۸۵، حساسیت و ویژگی بیشتر PSA نسبت به اسید فسفاتاز شناخته شد و ارجحیت آن در یافتن مایع منی در تجاوزات جنسی مورد تأکید قرار گرفت (۲). چهار سال بعد، دانشمندان چینی آن را بهترین روش برای تشخیص منی در لکه‌های مشکوک ارزیابی کردند (۱۱).

بحث‌هایی در مورد اینکه آیا PSA و P30 (که پروتئینی است که از منی با کروماتوگرافی جدا شد) واقعاً یکی هستند یا دو آنتی‌ژن مجزا هستند وجود دارد که با آزمایشات متعدد ثابت شده هر دو اینها در حقیقت یکی بوده و دو نام مختلف یک آنتی‌ژن هستند، همچنین هر دو آنتی ژن به پروتئین یکسانی در پلاسمای مایع منی متصل می‌شوند (۱۳، ۱۲، ۷).

روش‌های مختلفی برای جستجو و شناسایی PSA وجود دارد که می‌توان به orchterlony double diffusion و cross over electrophrosis Rocket, immunoelectrophoresis , Radial immunodiffusion و ELISA اشاره نمود. حساس‌ترین تکنیک، ELISA است و می‌تواند PSA را با مقدار بسیار جزیی در حد ۴ ng/ml شناسایی کند (۱۲). ولی همه این تکنیک‌ها بسیار وقت‌گیر و هزینه‌بر هستند، بخصوص زمانی که تنها چند نمونه در هفته وارد یک آزمایشگاه قانونی می‌شود. تست‌های ایمونوکروماتوگرافی متعددی برای تشخیص PSA در سرم و ادرار در دسترس است که با سرعت و سهولت بیشتری وجود یا عدم وجود PSA در نمونه را تشخیص می‌دهد.

با توجه به لزوم دقت در روند آزمایش‌های قانونی، تحقیقات متعددی نشان داده است که تست‌های ایمونوکروماتوگرافی، حساسیت معادل ELISA در تشخیص PSA دارند و به خوبی می‌توانند در تشخیص قانونی مایع منی در نمونه‌های ارسالی به آزمایشگاه‌های پزشکی قانونی (مانند سوآپ‌های واژینال، لکه‌های مشکوک و نمونه‌های ادرار) مورد استفاده قرار گیرند (۱۲، ۱۱، ۹-۷، ۱). بنابراین تست‌های تشخیص PSA در سرم به راحتی برای آزمایشگاه‌های قانونی قابل استفاده است و روش اختصاصی دیگری برای تشخیص PSA مایع منی وجود ندارد (۱۴).

روش بررسی

تحقیق حاضر یک مطالعه مورد شاهدی است که در دو بخش انجام شده است.در بخش اول، نمونه‌ها شامل زنانی بودند که در سال

1- kallikrein- like serin protease
2- Semenogelin

۸۲ جهت درمان نازایی به مرکز درمان باروری و ناباروری اصفهان مراجعه نموده بودند. از میان مراجعین، ۵۲ نفر از خانم‌هایی که حداکثر در ۲۴ ساعت گذشته مقاربت بدون استفاده از وسایل پیشگیری انجام داده بودند و جهت تست‌های بعد از مقاربت[۳] مراجعه کرده بودند به عنوان گروه مورد (یا کنترل مثبت) انتخاب شدند. بنا به ملاحظاتی که از نظر زمانی در تست بعد از مقاربت وجود دارد حداکثر زمان مراجعه بعد از تماس جنسی نباید از ۴ ساعت بیشتر باشد؛ لذا یقیناً نمونه‌های اخذ شده در گروه کنترل مثبت بیش از ۶ ساعت از تماس جنسی آنان سپری نشده بود. ۵۸ نفر از خانم‌های مراجعه‌کننده‌ای نیز که به طور قطع طی یک هفته گذشته تماس جنسی نداشتند تحت عنوان گروه شاهد (یا کنترل منفی) وارد مطالعه شدند.

از هر دو گروه، با رعایت اصول اخلاق پزشکی، توسط پزشک معالج دو سوآپ واژینال گرفته شد. کلیه نمونه ها درشرایط یکسان از نظر دمای نگهداری و ظروف مورد استفاده و به صورت خشک شده در دمای اتاق (به منظور محافظت از آلودگی قارچی یا باکتریایی و حذف تداخلات ناشی ازفاسد شدن نمونه‌ها) به آزمایشگاه منتقل شدند. پس از شماره‌گذاری در آزمایشگاه، با استفاده از روش آزمون کور[۴] بر روی سوآب‌های ارسالی هر دو گروه، آزمایش اسید فسفاتاز نیمه کمی و اسید فسفاتاز کیفی و آنتی‌ژن اختصاصی پروستات (PSA) انجام گرفته و نتایج ثبت گردید.

در بخش دوم تحقیق، نمونه‌های اخذ شده از مراجعین در مرکز پزشکی قانونی استان اصفهان بدون اطلاع از وقوع یا عدم وقوع مقاربت و زمان آن، گردآوری شد و توسط هر دو روش، وجود یا عدم وجود مایع منی مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌های آزمایشگاهی

الف) استخراج نمونه: نیم میلی لیترسالین فسفات با PH = ۷ در درون یک لوله آزمایش اضافه شد. سوآپ نمونه در درون محلول سرم فیزیولوژی قرار داده شد و به مدت یک ساعت رهاگردید. با استفاده از یک پیپت پاستور سالین فسفات قبلاً اضافه شده از خلال پنبه آغشته به نمونه کشیده شد و به یک لوله آزمایش تمیز دیگر منتقل گردید. لوله آزمایش با سرعت پنج هزار دور در دقیقه سانتریفوژ شده و از مایع فوقانی جهت انجام آزمایشات اسید فسفاتاز وPSA استفاده گردید (۱۶).

آزمایش اسید فسفاتاز به روش AP spot test و با استفاده از سوبسترای فنل فتالئین فسفات بر روی کاغذ صافی انجام شد. نتایج در دو زمان مختلف خوانده شد.

ب) انجام تست اسیدفسفاتاز: یک تا دو قطره از محلول استخراج شده بر روی یک قطعه کاغذ صافی به ابعاد ۳×۳ سانتیمتر اضافه شده و سپس یک قطره محلول سوبسترا بر روی کاغذ صافی اضافه گردید و رأس زمان ۲ و ۵ دقیقه پس از اضافه کردن سوبسترا، شدت رنگ بنفش حاصل شده، برحسب سیستم Plus از یک تا چهار ثبت شد (رنگ بنفش تیره، + ۴ در نظرگرفته شد).

سوبسترا شامل محلول ۰/۱٪ فنل فتالئین فسفات در بافر استات ۰/۲ مولار با PH = ۵ بودکه بطور روزانه تهیه می‌شد و یا از فرم نگهداری شده در فریزر ۲۰ درجه سانتیگراد، مقدار لازم جهت نیاز هر روز استفاده شده و مابقی دور ریخته می‌شد.

ج) انجام تست PSA : آزمایش PSA با روش ایمونوکروماتوگرافی (membrance test) با استفاده از کیت ساخت کارخانه Acon انجام شد. پس ازخارج کردن کارتریج های آماده PSA از یخچال و رسیدن آنها به دمای اتاق (حدود ۲۰ دقیقه قبل از انجام آزمایش) ابتدا ۵۰ میکرولیتر از مایع استخراج شده به حفره مخصوص نمونه، تعبیه شده بر روی کارتریج اضافه کرده وسپس یک قطره از بافر موجود درکیتPSA به آن اضافه کرده و به مدت ده دقیقه درحالت کاملاً افقی در آزمایشگاه رها می‌کنیم. سپس تعداد و محل تشکیل شدن باندهای رنگی معرف مثبت و یا منفی بودن تست خواهد بود. به این ترتیب که تشکیل سه باند رنگی در سه نقطه مختلف جهت یک تست مثبت لازم است که شامل یک باند در محل کنترل (این باند معرف انجام صحیح تست است) یک باند رنگی در محل مربوط به ریجت که معرف درست بودن حلال‌ها و میزان آنها است و محل سوم که تشکیل باند رنگی در این محل معرف وجود PSA در محلول آزمایش شده می‌باشد (۱۶).

یافته‌ها

نتایج بدست آمده از آزمایشات انجام شده بر روی نمونه‌های کنترل مثبت (مورد) و کنترل منفی (شاهد) به اختصار در جدول (۱) و (۲) و (۳) آورده شده است.

ویژگی[۵] = (تعدادکل نمونه‌های کنترل منفی/ تعداد نمونه‌های منفی واقعی) ×۱۰۰

حساسیت[۶]=(تعدادکل نمونه‌های کنترل مثبت/تعداد نمونه های مثبت واقعی) ×۱۰۰

جدول ۱- پاسخ تست اسید فسفاتاز نیمه کمی (خوانش نتیجه رأس دو دقیقه)

گروه کنترل / آزمایش	مثبت	منفی
مثبت T+	TP[۷] : ۴۶	FP[۸] : ۱۵
منفی T-	FN[۹] : ۶	TN[۱۰] : ۴۳
تعداد	۵۲	۵۸

* موارد تست اسید فسفاتاز با واکنش ضعیف نیز مثبت تلقی شده‌اند.

ویژگی = ٪۷۴/۱

حساسیت = ٪۸۸/۴

3- post coital test
4- Blind test
5- Specificity
6 - Sensitivity
7 - True positive
8 - False positive
9 - False negative
10 - True negative

جدول ۲- پاسخ تست اسید فسفاتاز کیفی(خوانش نتیجه راس پنج دقیقه)

آزمایش / گروه کنترل	مثبت	منفی
مثبت T+	TP: ۵۱	FP: ۵۵
منفی T-	FN: ۱	TN: ۳
تعداد	۵۲	۵۸

* موارد تست اسید فسفاتاز با واکنش ضعیف نیز مثبت تلقی شده‌اند.

ویژگی = ۵/۱٪

حساسیت= ۹۸٪

جدول ۳- پاسخ تست آنتی‌ژن اختصاصی پروستات (PSA)

آزمایش / گروه کنترل	مثبت	منفی
مثبت T+	TP: ۵۲	FP: ۰
منفی T-	FN: ۰	TN: ۵۸
تعداد	۵۲	۵۸

ویژگی = ۱۰۰٪

حساسیت= ۱۰۰٪

نتایج بدست آمده در بخش دوم تحقیق شامل نمونه مراجعه‌کنندگان به پزشکی قانونی است. در این بخش تعداد ۷۹ مورد بدون اطلاع از وجود یا عدم وجود مایع منی و زمان مقاربت احتمالی مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج در جدول ۴ آمده است.

جدول ٤- نتایج مربوط به بررسی نمونه‌های اخذ شده از مراجعین به مرکز پزشکی قانونی استان اصفهان

تست / نتیجه	اسید فسفاتاز نیمه‌کمی	اسید فسفاتاز کیفی	آنتی‌ژن اختصاصی پروستات
مثبت	۸	۴۱	۲۸
منفی	۵۲	۱۲	۵۱
مشکوک	۱۹	۲۶	---
تعداد	۷۹	۷۹	۷۹

بحث

در بخش اول تحقیق تفاوت در پاسخ آزمونهای فسفاتاز نیمه‌کمی، کیفی و تست PSA نمایانگر تفاوت در حساسیت و ویژگی این آزمونها به عنوان نشانگر زیستی مایع منی می‌باشد. حساسیت و ویژگی تست اسید فسفاتاز نیمه‌کمی به ترتیب ۸۸/۴٪ و ۷۴/۱٪ محاسبه گردیده است که نشان‌دهنده حساسیت نسبتاً مناسب به عنوان یک تست فرضی جهت تجسس مایع منی در نمونه‌ها است.

در مورد اسید فسفاتاز کیفی (خوانش رأس ۵ دقیقه پس از شروع واکنش) حساسیت بالاتر از تست فسفاتاز نیمه‌کمی گزارش گردیده (۹۸٪) که با توجه به مکانیسم واکنش (کینتیک آنزیمی) دور از انتظار نمی‌باشد نکته قابل توجه در این تست ویژگی بسیار پایین (۵/۱٪) این تست در تشخیص مایع منی در نمونه‌های سوآپ واژینال است همان طور که درجدول ۲ در بخش نتایج دیده می‌شود تعداد موارد مثبت کاذب اسید فسفاتاز کیفی در نمونه‌های کنترل منفی ۵۵ عدد از مجموع ۵۸ عدد می‌باشد. به این جهت توصیه می‌شود از این تست به ویژه در تشخیص مایع منی در نمونه های سواپ واژن به هیچوجه استفاده نشود چرا که این تست موارد مثبت کاذب بسیار بالایی را نشان می‌دهد.

در مقایسه ویژگی تست اسید فسفاتاز نیمه‌کمی با اسید فسفاتاز کیفی مشاهده می‌شود که تست اسید فسفاتاز نیمه‌کمی ویژگی بسیار بیشتری نسبت به تست اسید فسفاتاز کیفی نشان می‌دهد. اگرچه این تست ویژگی کافی جهت کاربرد به عنوان یک تست تأییدی را دارا نیست ولی نتایج حاصله از آن بسیار قابل اعتمادتر از تست اسید فسفاتاز کیفی می‌باشد. با وجود اینکه اساس انجام هر دو تست کاملاً مشابه هم است و تنها زمان خواندن نتیجه دراین دو آزمایش متفاوت است ولی همین محدود شدن زمان برای انجام تست اسید فسفاتاز نیمه‌کمی باعث تمایز نسبی وجود اسید فسفاتاز با منشاء پروستاتی (مایع منی) از اسید فسفاتازی که به مقدار یک بیستم مایع منی، در مایع واژینال نیز وجود دارد گشته، لذا جهت تجسس مایع منی بسیار قابل اعتمادتر از تست اسید فسفاتاز کیفی است.

تست آنتی ژن اختصاصی پروستات PSA یا P30 آنتی‌ژن، حساسیت (۱۰۰٪) و ویژگی (۱۰۰٪) بسیار بالایی را در نمونه‌های گرفته شده نشان داده است که بیانگر قابلیت این تست به عنوان یک تست تأییدی در جستجوی مایع منی در نمونه‌های سوآپ واژینال است. این آنتی‌ژن در ترشحات زنان یافت نشده (برخلاف اسید فسفاتاز) و یک آنتی‌ژن مردانه محسوب می‌گردد.

حساسیت و ویژگی به دست آمده در این مطالعه برای این تست قدری (۵-۳٪) بالاتر از مطالعات مشابهی است که در دنیا به این منظور انجام گرفته است و به نظر می‌رسد که دلیل آن ایده‌آل بودن شرایط نمونه‌های تهیه شده[11] در گروه کنترل مثبت و منفی باشد.

در بخش دوم تحقیق، ۷۹ نمونه سوآپ واژینال اخذ شده از مراجعین به مرکز پزشکی قانونی استان اصفهان، که از وجود یا عدم وجود مایع منی و همچنین زمان طی شده از مقاربت احتمالی تا زمان نمونه‌برداری، اطلاعی در دست نبود؛ توسط هر سه روش (اسید فسفاتاز نیمه‌کمی و کیفی و PSA) مورد بررسی قرار گرفت که نتایج حاصل شده از آن در بخش نتایج آورده شده است.

11- sample & sampling

در این گروه، مقایسه نتایج حاصل شده از تست‌های اسیدفسفاتاز نیمه‌کمی و اسید فسفاتاز کیفی و PSA مدنظر قرار گرفت. از ۵۲ موردی که از نظر تست اسید فسفاتاز نیمه‌کمی منفی گزارش شد ۳۸ (۷۳٪) مورد از آنها تست PSA نیز منفی بود. ۱۴ مورد (۲۷٪) از نظر آنتی ژن PSA مثبت شده‌اند که نشان‌دهنده قابل اعتمادبودن نسبی تست اسید فسفاتاز نیمه‌کمی در تشخیص مایع منی در سوآپ‌های واژینال است.

از ۸ موردی که از نظر تست اسید فسفاتاز نیمه‌کمی مثبت (+۱ تا +۳) گزارش شده تعداد ۴ (۵۰٪) مورد از نظر آنتی‌ژن PSA نیز مثبت بودند و ۴ (۵۰٪) مورد دیگر از نظر آنتی ژن PSA منفی گزارش شدند.

از ۱۹ موردی که از نظر تست اسید فسفاتاز نیمه‌کمی مشکوک (-/+) گزارش شد، ۹ مورد (۴۷/۴٪) از نظر آنتی ژن PSA منفی و ۱۰ مورد دیگر (۵۲/۶٪) از نظر آنتی ژن PSA مثبت گزارش شدند.

یافته‌های به دست آمده نمایانگر آن است که نتایج حاصل از تست اسید فسفاتاز نیمه‌کمی به تنهایی قابل اعتماد نبوده و لازم است به وسیله یک نشانگر زیستی (بیومارکر) دیگر مایع منی مورد تأیید قرار گیرد.

همچنین از ۵۲ موردی که از نظر تست اسید فسفاتاز نیمه‌کمی منفی شده بود، ۱۴ مورد (۲۷٪) در تست اسید فسفاتاز کیفی مثبت (+۱ تا +۲) بود که تنها در دو مورد از آنها PSA مثبت گردید. ۲۶ مورد (۵۰٪) اسید فسفاتاز کیفی با نتیجه مشکوک (-/+) داشته‌اند که در هفت مورد PSA مثبت گردید. این یافته‌ها نشان می‌دهد اسیدفسفاتاز کیفی علیرغم حساسیت زیاد در تشخیص مایع منی بی-ارزش است.

از ۵۲ موردی که از نظر تست اسید فسفاتاز نیمه‌کمی منفی شده بودند، ۱۲ مورد (۲۳٪) اسید فسفاتاز کیفی مثبت داشتند که در چهار مورد PSA مثبت شد. این یافته با توجه به حساسیت زیاد اسیدفسفاتاز کیفی قدری غیرعادی می‌نماید ولی توجه به این نکته که اسید فسفاتاز در دوره زمانی کوتاه‌تری نسبت به PSA مثبت باقی می‌ماند (این خود یکی دیگر از مزایای PSA بر اسیدفسفاتاز است) احیاناً نمونه‌های اخیر با فاصله زمانی زیادی بعد از مقاربت مراجعه نموده‌اند.

نتیجه‌گیری

با توجه به حساسیت و ویژگی تست PSA به عنوان نشانگر (بیومارکر) مایع منی به همراه سایر مزایایی که این نشانگر نسبت به سایر نشانگرهای مایع منی داراست - و در متن مقاله بدان اشاره گردید- انجام هم‌زمان این تست بر روی نمونه‌ها، ارزش تفسیری نتایج آزمایشگاهی در ارزیابی تجاوزات جنسی را افزایش می‌دهد. بدین معنی که مثبت یا منفی شدن تست‌ها همراه با شرح حال اخذ شده از قربانیان تجاوز که شامل شرایط و زمان تجاوز جنسی است می‌تواند به بهترین نحو مورد استفاده قرار گیرد.

با توجه به نتیجه این تحقیق نویسندگان استفاده از تست PSA را به عنوان یک تست تأییدی برای آزمایش اسید فسفاتاز، در نمونه‌های سوآپ واژینال که جهت بررسی وجود مایع منی و همچنین در بررسی لکه‌های مشکوک روی البسه، در آزمایشگاه‌های پزشکی قانونی کشور قویاً پیشنهاد می‌کنند. همچنین انجام تحقیقات بیشتر در مورد نمونه‌های اخذ شده بیش از ۴۸ ساعت از انجام مقاربت پیشنهاد می‌شود.

تقدیر و تشکر

از همکاری صمیمانه و صادقانه مسؤولین مرکز ناباروری اصفهان که در جمع آوری نمونه‌های کنترل ما را یاری فرمودند تقدیر و تشکر می‌گردد.

منابع

1- Simich JP, Morris SL, Klick RL, Ritten house- Dia kun K. Validation of the use of a commercially available kit for the identification of prostatic spisific antigen (PSA) in Semer stains. J Forensic Sci. 1999 nov. 44 (6): 1229-31.

2- Graves HC, Sensabaugh GF, Blake ET. Postcoital detection of a male-specific semen protein. Application to the investigation of rape, N Engl J Med. 1985 Feb 7; 312 (6): 338-43.

3- Dimaio VJ, Dimaio D. Forensic pathology. 2ed. Florida. CRC Press; 2001: 442-444.

4- Sensabaugh GF. The quantitative acid phosphatase test. A statistical analysis endogenous and postcoital acid phosphates level in the vagina, J forensic sci, 24 (2), April 1999; 346-365.

5- Turvey B. "A-Utopic Determination of Oral Sex in Forensic Science", Knowledge solution library, June, 1995.

6- Seregni E, Bottic, Ballahio G. Biochemical characteristics and recent biological knowledge on prostatic specific antigen. Tumori. 1996 Jan-Feb; 82(1): 72-7.

7- Parg BC, Cheung BK. Identification of human semenogelin in membrane strip test as an alternative method for detection of semen. Forensic sci int. 2006 Ang 29; [Epub ahead of print]

8- Sato I, Sagi, I shiwari A, Nishijima M, Ito E, Mukai T. Use The "SMITEST" PSA card to identify the presence of prostatic spefic antigen in semien and male urine. Forensic sci int. 2002 jun 25; 127 (1-2): 71-4.

9- Sato I. Rapid ditection of Semenoglin by one-step immunochromato graphic assay for semen identification J Immunol Methods. 2002 Apr; 287 (1-2): 137-45.

10- Khaldi N, Miras A, Botti K, Benali L, Gromb S. Evaluation of Three rapid detection methods for the forensic identification of seminal fluid in rape cases. J Forensic sci. 2004 Jul; 49 (4): 749-53.

11- Hou YP, Wu MY. Identification of human semen stains using anti P30 serum. Hua Xi Yi Ke Da Xue Xue Bao. 1989 Jun; 20 (2): 144-6.

12- Hochmeister MN, Budowle B, Rudino, Gehrig C, Borer U, Thali M, et al. Evaluation of prostatic-specific antigen (PSA) membrane test assays for the forensic identification of seminal fluid. J Forensic sci. 1999 sep; 44 (5): 1057-60.

13- Graves HC, Kamarei M, Stamey TA. Identity of prostate specific antigen and the semen protein P30 purified by rapid chromatography technique. J urol. 1990 Dec; 144 (6): 1510-5.

14- Yokota M, M itani T, Tsujita H, Kobavashi T, Higuchi T, Akane A, et al. Evaluation of prostate-specific antigen (PSA) membrane test for forensic examination of Semen. Leg Med (Tokyo). 2001 Sep; 3 (3): 171-6.

15- Khaldi N, Koffi B, Gromb S. Evaluation of three methods for the seminal fluid fast Detection in case of rape. Congress of European association of forensic science, 2003 May 21-26, Istambol, Turkey, Elsevier, 2003.

16- Makoto Yokota , Tomoaki Mitani , Hiroshi Tsujita, Tetsuya Kobayashi.Legal Medicine 3(2001): 171-176.

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی