



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES
ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ)
PODER JUDICIAL, COSTA RICA

**PROCEDIMIENTO PARA LA INVESTIGACIÓN
POR SEMEN: TINCIÓN CHRISTMAS TREE**

PROCEDIMIENTO DE
OPERACIÓN NORMADO
ESPECIFICO

P-DCF-ECT-BQM-09

Versión: 12

Rige desde: 24/04/2024

PAGINA: 1 de 12

Elaborado o modificado por:

M.Sc. Melissa Rojas Araya
Profesional en Genética Forense
Sección de Bioquímica

Dr. Glen Arrieta Castro
Profesional en Genética Forense
Sección de Bioquímica

Raquel Ortiz
Arguedas Técnico
Especializado 6
Sección Bioquímica

Revisado por Líder Técnico:

Dra. Anayanci Rodríguez Quesada
Profesional en Genética Forense
Líder Técnico de Sección/Unidad de
Bioquímica

Visto Bueno Encargado de Calidad:

Dr. Alejandro Hernández Bolaños
Profesional en Genética Forense
Encargado de Calidad de la Sección de
Bioquímica

Aprobado por:

Dra. Eugenia Fernández Mora
Jefatura Sección de Bioquímica

	DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA	PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN NORMADO ESPECIFICO P-DCF-ECT-BQM-09
	PROCEDIMIENTO PARA LA INVESTIGACIÓN POR SEMEN: TINCIÓN CHRISTMAS TREE	
Versión: 12	Rige desde: 24/04/2024	PAGINA: 2 de 12

CONTROL DE CAMBIOS A LA DOCUMENTACIÓN

Versión	Fecha de Aprobación	Fecha de Revisión	Descripción del Cambio	SCD	Solicitado por
01	01/12/2009	13/06/2014	Versión Inicial del Procedimiento	-	MEE
02	13/06/2014	21/03/2017	Revisión del PON		MEE
03	21/03/2017	05/06/2017	Revisión y cambio de formato	26-2017	EFM
04	05/06/2017	14/06/2018	Revisión y edición	50-2017	EFM
05	14/06/2018	13/05/2019	Revisión y edición	11-2018	EFM
06	13/05/2019	01/08/2019	Revisión y edición	06-2019	EFM
07	01/08/2019	26/02/2021	Corrección de preparación y codificación de controles positivos	16-2019	EFM
08	26/02/2021	22/06/2021	Revisión y edición	09-2021	ARQ
09	22/06/2021	29/07/2021	Modificaciones posteriores a Auditoría Interna	20-2021	EFM
10	29/07/2021	16/11/2023	Correcciones	38-2021	EFM
11	16/11/2023	24/04/2024	Revisión y correcciones	25-2023	EFM
12	24/04/2024		Revisión y correcciones	09-2024	EFM

**ESTE PROCEDIMIENTO ES UN DOCUMENTO CONFIDENCIAL
PARA USO INTERNO DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES
SE PROHÍBE CUALQUIER REPRODUCCIÓN QUE NO SEA PARA ESTE FIN**

La versión oficial digital es la que se mantiene en la ubicación que la Unidad de Gestión de Calidad defina. La versión oficial impresa es la que se encuentra en la Unidad de Gestión de Calidad. Cualquier otro documento impreso o digital será considerado como copia no controlada

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 12	PAGINA: 3 de 12
PROCEDIMIENTO PARA LA INVESTIGACIÓN POR SEMEN: TINCIÓN CHRISTMAS TREE	P-DCF-ECT-BQM-09	

1 Objetivo:

El objetivo de este PON es establecer un procedimiento para la realización de una tinción específica que permita la detección de espermatozoides y/o cabezas de espermatozoides en diferentes muestras recolectadas de casos forenses.

2 Alcance:

Este PON se emplea como parte de la investigación de semen utilizando la tinción de Christmas Tree para verificar o descartar por observación microscópica la presencia de cabezas de espermatozoides y/o espermatozoides completos en todos los extractos realizados a partir de muestras recolectadas de diferentes indicios.

3 Referencias:

- Coastal Healthcare. 1992. Bloodborne Pathogens. Virginia Beach, VA.USA.
- USA. Forensic Science Research and Training Center, Laboratory Division, FBI Academy. Quantico, Virginia, USA Proceedings of a Forensic Science Symposium on the Analysis of Sexual Assault Evidence The Laboratory Division. 1983.
- Gaensslen, R.E. Sourcebook in Forensic Serology, Immunology, and Biochemistry. National Institute of Justice. 1983.
- Poy, A.; van Oorschot, R. A. H. Beware; gloves and equipment used during the examination of exhibits are potencial vectors for transfer of DNA-containing material. International Congress Series No.1288 (2006) 556-558.
- Manual para desechos sólidos hospitalarios para personal médico y de enfermería, Programa Regional de Desechos Sólidos Hospitalarios, Convenio ALA 91/33 entre la Unión Europea y los Gobiernos Centroamericanos, 1998.

4 Equipos y Materiales:

- Bolsa de polietileno de alta densidad Fisherbrand, color rojo, tamaño 8,5" x 11 ", o similar, para el descarte de material bioinfeccioso, no punzocortante.
- Botellas de vidrio color ámbar para almacenar los colorantes. **
- Cámara de luz ultravioleta Air Science, Modelo UV-15-A, Serie UVB 000012 o similar.
- Canasta para tubos de 1.5 mL, DNA IQ Spin basket Promega referencia V1221 o similar.
- Centrífuga marca Fisher Scientific o similar, con capacidad para alcanzar 14000 rpm.
- Cronómetro o reloj de intervalos que marque minutos y segundos. (rango 0 a 60 minutos)
- Formulario: Reporte para Bitácora Semen, Sección de Bioquímica.
- Formulario: Lista de Verificación Procedimiento para la investigación por semen, Sección de Bioquímica.
- Formulario: Libro de Control de uso de Equipo (Microscopio).
- Gabacha desechable limpia o similar.
- Gotero plástico desechable.
- Gradilla para tubos de microcentrífuga. **
- Guantes desechables.
- Lápiz de cera.

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 12	PAGINA: 4 de 12
PROCEDIMIENTO PARA LA INVESTIGACIÓN POR SEMEN: TINCIÓN CHRISTMAS TREE	P-DCF-ECT-BQM-09	

- Lápiz de grafito.
- Mascarilla desechable.
- Micropipeteadores ajustables de 0,5-10µL, 2-20µL, 10-100µL, 10-200uL, 100-1000uL.****
- Microscopio de luz binocular con lente de inmersión, marca Olympus o similar. (aumento 100X)
- Papel toalla desechable.
- Pinzas de metal. Lave la punta de la pinza entre muestras, con etanol al 70 y/o descontaminante de ADN y ARNnasas, DNA Away Cat 7010 o similar, siempre utilice toallas suaves desechables "Kimwipes" o similar*****
- Pizetas.
- Portaobjetos nuevos con cantos esmerilados de 25X75 mm o similares.
- Puntas para micropipeteadores de 10uL, 200uL, 1000uL nuevas y estériles.*
- Recipiente plástico desechable para pesar reactivos o similar.
- Recipientes de material plástico rígido (polietileno o polipropileno), impermeable y resistente a la perforación, golpes o caídas, provistos preferiblemente de un sistema que impida extraer los objetos desechados, preferiblemente de color rojo e identificados con una etiqueta visible con la palabra "punzocortantes" acompañada del símbolo de biopeligrosidad.
- Refrigerador con temperaturas cercanas a los 4°C. (rango 2-8C ± 2°C)
- Rejilla para láminas o bandeja o similar. ***
- Thermomixer marca Eppendorf o similar.
- Toallas desechables tipo "Kimwipes" o similar.
- Tubos para microcentrifuga de 1,5 mL nuevos y autoclavados. *
- Vortex marca "Fisher Scientific Touch Mixer" Modelo 231 o similar.

* Ver: Procedimiento para la esterilización de material mediante autoclavado.

** Para su lavado: utilice Detergente Terg-A-Zyme al 1 % y posteriormente enjuague con agua de tubo eliminando rastros de jabón (como mínimo tres veces); enjuague con agua desionizada tipo Milli-Q o similar. Deje escurrir sobre papel absorbente y al encontrarse seco, prepare el material para el proceso de esterilización. (Ver Procedimiento para la esterilización de material mediante autoclavado).

*** Para su lavado, solamente enjuague con agua de tubo y deje secar a temperatura ambiente.

***** Limpie la parte externa de las micropipetas con descontaminante de ADN y ARNnasas DNA Away Cat 7010, luego con etanol al 70% cada vez que la va a usar.

***** Irradie las pinzas al menos 15 minutos al principio y al final de su uso en las cámaras de luz UV.

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 12	PAGINA: 5 de 12
PROCEDIMIENTO PARA LA INVESTIGACIÓN POR SEMEN: TINCIÓN CHRISTMAS TREE	P-DCF-ECT-BQM-09	

5 Reactivos y Materiales de Referencia:

- Agua tipo Milli-Q o similar estéril (Ver: Procedimiento para la esterilización de material mediante autoclavado).
- Buffer TBE 10X
- Control positivo: Aplicadores impregnados con semen (ver Anexo 2)
- Control de reactivos Negativo (ver Anexo 2)
- Reactivos para tinción: Metanol, alcohol absoluto, verde Picroindigocarmin y Rojo Nuclear o Solución de Kernechtol
- Tiras reactivas para medición de pH con escala de color desde 0-14 J.T Baker o similar.

6 Condiciones Ambientales:

El procedimiento para realizar la tinción debe efectuarse en las áreas designadas para el análisis de indicios para investigación por semen (pre amplificación) en la Sección de Bioquímica.

7 Procedimiento:

7.1 Preparación de los extractos para la investigación por espermatozoides.

- 7.1.1** Utilice guantes, gabacha desechable, mascarilla desechable y cubrecabezas.
- 7.1.2** Limpie cuidadosamente la mesa de trabajo con DNA Away Cat 7010 o similar y/o etanol al 70% utilizando toallas de papel desechables.
- 7.1.3** Seleccione y recorte las muestras a analizar, el control positivo y el control negativo de acuerdo a lo establecido en el Procedimiento para el Manejo de aplicadores, manchas de sangre y otros (P-DCF-ECE-BQM-04).
- 7.1.3.1** Rotule, utilizando una de las siguientes abreviaturas, el control positivo (CP-CPOS-Control Positivo-POS) y el control negativo (CN-CNEG-Control Negativo-NEG).
- 7.1.4** Agregue de 400-1000 ul de agua tipo Milli-Q o similar a cada una de las muestras.
- 7.1.5** Agite en vortex.
- Nota 1:** Verifique el pH del agua tipo Milli-Q o similar el cual deberá estar entre 7-8. En caso de que el pH sea diferente al recomendado se deberá ajustar con el buffer TBE 10X hasta lograr el pH especificado.
- 7.1.6** Agite por al menos 4 hrs a 8-15 °C a una velocidad de 900 rpm utilizando un thermomixer o similar.
- 7.1.7** Agite en vortex y centrifugue de 5 a 10 segundos.
- 7.1.8** Tome una canasta para tubos (spin basket) de 1.5 mL y coloque con una pinza de metal limpia, el o los trozos de aplicador ó de tela. Coloque la canasta (spin basket) en el tubo de microcentrífuga que tenía la muestra originalmente.
- 7.1.9** Limpie la punta de la pinza entre muestras, utilizando DNA Away Cat 7010 o similar y/o etanol al 70% utilizando toallas suaves desechables "Kimwipes" o similar.
- 7.1.10** Centrifugar de 5 a 10 minutos a un rango entre 12000 y 14000 r.p.m los tubos de microcentrífuga de 1.5 mL conteniendo en su interior la canasta (spin basket).
- 7.1.11** Descarte la canasta (spin basket).

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 12	PAGINA: 6 de 12
PROCEDIMIENTO PARA LA INVESTIGACIÓN POR SEMEN: TINCIÓN CHRISTMAS TREE	P-DCF-ECT-BQM-09	

7.1.12 Transfiera el sobrenadante (dejando al menos 30 μ l con el botón de células) a otro tubo para microcentrífuga de 1,5 mL previamente rotulado.

7.1.12.1 Guarde en refrigeración este nuevo tubo para realizar la prueba de P30 en caso de ser necesario.

7.2 Elaboración y tinción de los portaobjetos para investigación de espermatozoides.

7.2.1 Tome un portaobjetos y haga círculos con un lápiz de cera.

7.2.2 Rotule el portaobjeto, en la parte biselada, con al menos el número de OT respectivo y el nombre del objeto (muestra) a analizar, con un lápiz de grafito, para cada uno de los extractos a analizar.

7.2.3 Tome 3 μ L del botón de células que se encuentra en el fondo del extracto centrifugado, con mucho cuidado y coloque la muestra en el portaobjeto, dentro del círculo correspondiente.

7.2.3.1 Guarde en refrigeración, en caso de ser necesario, el(los) tubo(s) con el botón de células para realizar la extracción diferencial.

7.2.4 Repita el punto anterior para cada uno de los extractos a analizar.

7.2.5 Deje secar los portaobjetos.

7.2.6 Fije cada uno de los círculos del portaobjetos con una o dos gotas de metanol.

7.2.7 Deje secar los portaobjetos.

7.2.8 Coloque los portaobjetos, incluyendo el "control positivo" y "control negativo", en la bandeja de tinción o rejilla para laminas.

7.2.9 Agregue colorante rojo nuclear sobre cada portaobjeto cubriendo la muestra, déjelo reposar de 10-20 minutos.

7.2.10 Elimine todo el colorante del portaobjeto una vez terminado el tiempo indicado. Utilice para ello una pizeta con agua tipo Milli-Q o similar, lavando con suavidad.

7.2.11 Deje escurrir ligeramente.

7.2.12 Agregue el colorante Verde Picroindigocarmin, sobre cada una de los portaobjetos cubriendo la parte donde se depositó la muestra. Déjelo reposar por 20 segundos aproximadamente.

7.2.13 Al cumplirse el lapso indicado, lave cada uno de los portaobjetos con una pizeta que contenga etanol absoluto, dejándolo caer suavemente sobre cada lámina.

7.2.14 Deje secar los portaobjetos.

7.3 Observación microscópica de los portaobjetos teñidos.

7.3.1 Coloque en el portaobjeto a analizar una gota de aceite de inmersión.

7.3.2 Observe el portaobjeto con el lente de inmersión. Observe un mínimo de 10 campos. Debe de tomar en cuenta que si se observan pocas cabezas o no se observan, se debe de revisar todo el círculo donde se depositó la muestra detalladamente. Por el contrario, si se observan abundantes cabezas, debe de contar el número de las mismas en 10 a 20 campos.

7.3.3 Reporte el número de cabezas de espermatozoides contadas en el número de campos observados.

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 12	PAGINA: 7 de 12
PROCEDIMIENTO PARA LA INVESTIGACIÓN POR SEMEN: TINCIÓN CHRISTMAS TREE	P-DCF-ECT-BQM-09	

7.3.4 En los casos que se observen cabezas de espermatozoides, reporte la presencia de células epiteliales (CE), leucocitos (L), levaduras (LEV), flora bacteriana (FB), sedimento (SED) o cualquier otro hallazgo que considere importante. Utilice los términos: A:abundantes, M:moderados, E:escasos.

7.3.5 Anote los resultados del análisis en el formulario: "Reporte para Bitácora Semen" de la siguiente manera: # cabezas/#C.O., #cabezas/TCO (utilice este término cuando observe la totalidad del círculo donde se depositó la muestra), o INC o NSO (según corresponda).

7.3.6 En caso de observar la presencia de estructuras con características similares a cabezas espermáticas, identifíquelas como posibles cabezas espermáticas atípicas.

7.3.6.1 Si solamente se observa 1 cabeza atípica, se deberá reportar el C.T. como No Concluyente.

7.3.7 En los extractos en los cuales no se observó la presencia de cabezas típicas de espermatozoides en la tinción de Christmas Tree o se obtuvo un resultado NC se deberá realizar el montaje de la proteína p30 y seguir lo indicado en el Procedimiento para la investigación por Semen: determinación de proteína p30.

Nota 2: Todos los resultados obtenidos deben ser verificados por parte de otro analista competente. Este proceso se debe realizar según lo estipulado en el PON de Gestión de Casos e Interpretación de Resultados.

7.3.8 Limpie el lente de microscopio al terminar su labor.

7.3.9 Anótese en el Formulario: Libro de Control de uso de Equipo (Microscopio).

Nota 3: Para todos los casos de la Ley de Maltrato Animal (violaciones que involucren animales) se deben realizar siempre los análisis de CT y la prueba de P30.

8 Criterios de Aceptación o Rechazo de Resultados:

Control positivo o control de tinción: se acepta el resultado de la tinción si en el portaobjeto respectivo se observan las cabezas típicas de los espermatozoides, de un tono rojizo.

Control Negativo: no se deben de observar cabezas o espermatozoides en el portaobjeto respectivo

Los resultados de los controles positivos y negativos se deben registrar en el Registro de Análisis en serie (RAS) o en el Formulario: Reporte para Bitácora Semen, Sección de Bioquímica.

Acciones Correctivas:

Si la coloración de los espermatozoides de la muestra o el control en el portaobjeto no es la esperada, se debe proceder a realizar una nueva lámina y teñirla con otro grupo de colorantes.

9 Cálculos y evaluación de la incertidumbre:

- N/A

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 12	PAGINA: 8 de 12
PROCEDIMIENTO PARA LA INVESTIGACIÓN POR SEMEN: TINCIÓN CHRISTMAS TREE	P-DCF-ECT-BQM-09	

10 Reporte de Análisis y Resultados:

El reporte de los resultados del análisis del Christmas Tree debe realizarse en el formulario "Reporte para Bitácora Semen, Sección de Bioquímica".

Para el reporte en el Dictamen de Análisis Criminalístico existen los siguientes parámetros:

Posible resultado	Espermatozoides o cabezas/C.O. o T.C.O.	Interpretación
1.	0/T.C.O.	No se observan
2.	1-10/T.C.O.	Positivo escaso
3.	≥ 11/T.C.O.	Positivo
4.	1 cabeza atípica	No Concluyente

Se debe realizar el reporte de resultados y la interpretación de los mismos de acuerdo a lo estipulado en el SADCF.

11 Medidas de Seguridad y Salud Ocupacional:

Recuerde colocarse la gabacha, la mascarilla y los guantes antes de manipular las muestras, para prevenir su contaminación con ADN exógeno. De igual forma los fluidos biológicos impregnados en las muestras son fuente potencial de enfermedades por lo tanto debe manipularse según normas establecidas.

Es importante usar todas las barreras de protección para evitar la contaminación de las muestras con fragmentos de piel o con saliva del analista.

Debe tenerse en cuenta que las herramientas de trabajo (pinzas, etc) deben ser limpiadas e irradiadas adecuadamente, por cuanto pueden convertirse en sitios de transferencia de ADN entre muestras previamente trabajadas. Pinzas y tijeras representan un alto riesgo por cuanto entran directamente en contacto con la muestra que se examina.

Debe asegurarse de limpiar el área de trabajo antes y después de realizar las pruebas.

Limpie la parte externa de las micropipetas con descontaminante de ADN y ARNnasa DNA Away Cat 7010 o similar y/o con etanol al 70% utilizando toallas suaves desechables "Kimwipes", una vez al mes.

Después de que utilizó la punta de micropipeta para colocar la muestra en el portaobjetos, deposítela en el recipiente para descarte de material punzocortante inmediatamente, para evitar su reutilización o posible accidente posterior.

Ante una eventual contaminación de la piel con la muestra analizada proceda a lavarse la zona afectada con abundante agua y jabón, posteriormente aplíquese alcohol al 70%.

Deseche los portaobjetos o cualquier objeto frágil o punzocortante en recipiente de paredes rígidas.

Cualquier tubo de microcentrífuga contaminado con material biopeligroso debe ser descartado al finalizar en bolsa de polietileno de alta densidad Fisherbrand, tamaño 8,5" x 11", o similar, para el descarte de material bioinfeccioso, no punzocortante.

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 12	PAGINA: 9 de 12
PROCEDIMIENTO PARA LA INVESTIGACIÓN POR SEMEN: TINCIÓN CHRISTMAS TREE	P-DCF-ECT-BQM-09	

12 Simbología:

A: abundantes

BQM: Bioquímica

CE: células epiteliales

CO: campos observados

CT: Christmas tree

DCF: Departamento de Ciencias Forenses

E: escasos

esp: Espermatozoides

FB: flora bacteriana

g: gramos

INC: incontables

L: Leucocitos

LEV: Levaduras

mg: miligramos

mL: mililitros

M: moderados

N/A: No aplica

NSO: No se observan

PON: Procedimiento de Operación Normado

rpm: Revoluciones por minuto

SADCF: Sistema automatizado del Departamento de Ciencias Forenses

SCD: Solicitud de Cambio Documental

SED: sedimento

TBE: Tris, Ácido Bórico, EDTA

TCO: Todos los campos observados

uL: microlitros

13 Terminología:

Desechos punzocortantes: El desecho punzocortante es todo objeto metálico, plástico y de cristal, con capacidad de penetrar y/o cortar tejidos humanos, facilitando el desarrollo de infección. Estos son: todo tipo de agujas, hojas de bisturí, navajas, materiales rígidos como tubos de ensayo de vidrio y de plástico, puntas plásticas de micropipetas, todo tipo de jeringas, porta y cubre objetos, aplicadores, asas de microbiología, lancetas, placas de petri, pipetas pasteur, brocas, grapas, otros instrumentos metálicos con filo y punta, etc, que hayan estado en contacto con agentes infecciosos o sus fuentes.

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 12	PAGINA: 10 de 12
PROCEDIMIENTO PARA LA INVESTIGACIÓN POR SEMEN: TINCIÓN CHRISTMAS TREE	P-DCF-ECT-BQM-09	

14 Anexos

No. de Anexo	Nombre del Anexo
01	Preparación de reactivos
02	Preparación de controles

COPIA NO CONTROLADA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 12	PAGINA: 11 de 12
PROCEDIMIENTO PARA LA INVESTIGACIÓN POR SEMEN: TINCIÓN CHRISTMAS TREE	P-DCF-ECT-BQM-09	

Anexo 01

Preparación de reactivos

Detergente Terg-A-Zyme al 1 %

Disuelva 10 gramos de detergente Terg-A-Zyme puro en un litro de agua de tubo.

Prepare al momento del lavado del material, no se debe almacenar, debe ser consumido en su totalidad en el lavado.

Verde Picroindigocarmin

Pese en una balanza granataria 4,00 g de ácido pícrico.

Mida 300 mL de agua desionizada tipo Milli-Q o similar en una probeta de 500 mL.

Añada el ácido pícrico al agua.

Cubra y mezcle con una pastilla magnética, con mucho cuidado y en un agitador magnético hasta tener una mezcla saturada, reposándola toda la noche.

Pese 1,00 g del Indigocarmin en la balanza granataria.

Agréguelo a la mezcla anterior.

Póngalo a agitar hasta que se disuelva.

Filtre usando papel de filtro P 8 de 25 cm de diámetro.

Guarde en botellas ámbar, identificadas con el nombre del reactivo, la fecha de elaboración, además de las condiciones de almacenamiento (2-8 °C).

Rojo Nuclear o Solución de Kernechtol

Pese 5,00 g de sulfato de aluminio $Al_2(SO_4)_3$ en la balanza granataria.

Pese 0,10 g del Rojo Nuclear (también llamado "Nuclear Fast Red o Kernechtrot") en la balanza granataria.

Mida en una probeta de 100 mL, 100 mL de agua desionizada Milli-Q o similar previamente calentada con un agitador magnético con calentador.

Mezcle los anteriores y se pone a agitar con una pastilla magnética hasta que se disuelva.

Deje enfriar.

Filtre usando papel de filtro P 8 de 25 cm de diámetro.

Guarde en botellas ámbar, identificadas con el nombre del reactivo, la fecha de elaboración, además de las condiciones de almacenamiento (2 - 8° C).

Etanol al 70%

Agregue 735 mL de etanol al 95% grado comercial medidos en una probeta estéril y afora con agua destilada tipo Milli-Q o similar estéril en 1 L balón aforado estéril. Guarde en botella de vidrio estéril y almacene a temperatura ambiente hasta que la solución no presente turbidez.

Buffer TBE 10 X

Agregue 108g de Tris base, 55g de Ácido bórico y 40ml de EDTA 0,5M pH 8 a un 1L de agua desionizada tipo II y posteriormente autoclavar en botella de vidrio transparente. Una vez frío mantener en refrigeración por un periodo de 3 meses.

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES	VERSIÓN 12	PAGINA: 12 de 12
PROCEDIMIENTO PARA LA INVESTIGACIÓN POR SEMEN: TINCIÓN CHRISTMAS TREE	P-DCF-ECT-BQM-09	

Anexo 02
Preparación de controles

Control positivo

Entregar aplicadores a una compañera administrativa o persona que no participe en análisis para que los impregne con saliva. Secar por al menos 24h en cámara. Realizar una dilución 1/50 con muestra de semen con agua desionizada tipo Milli-Q o similar estéril. Las muestras de semen utilizadas son las recolectadas por los pacientes que se realizan espermogramas en esta Sección cuyo conteo de espermatozoides es de al menos 15×10^6 esp/ml. Agregar 100 ul a cada aplicador seco con saliva. Secar por al menos 24h en cámara. Recortar individualmente un tubo por aplicador o máximo 2 tubos por aplicador y rotular con el # de lote. Almacenar en refrigeración. La preparación de estos controles se deberá registrar en el "Formulario para Reactivos Preparados". Al final se cuantifica el control para dar su aprobación.

Control negativo

Utilice un blanco de reactivos como control negativo.

COPIA NO CONTROLADA