

## مقایسه روش‌های جستجوی آنتی‌ژن PSA بر روی ۳۵۰ مورد نمونه مشکوک به تجاوز جنسی با نتیجه تست اسید فسفاتاز مثبت

دکتر محمد کاظمیان\* - دکتر امیر بشیان\*\* - مریم غفوریان\*\*\* - دانیال ظریف\*\*\* - دکتر حمید محبتی\*\*\*\*

\*متخصص پزشکی قانونی و مدیرکل امور پژوهشی و نشر منابع علمی سازمان پزشکی قانونی کشور  
\*\*متخصص آناتوموکلینیکال پاتولوژی دارای برد تخصصی - سرپرست آزمایشگاه پزشکی قانونی استان خراسان رضوی  
\*\*\*کارشناس سرولوژی آزمایشگاه پزشکی قانونی استان خراسان رضوی  
\*\*\*\*متخصص پزشکی قانونی و مدیرکل پزشکی قانونی استان خراسان رضوی

### چکیده

موضوع: یکی از ادله مهم جهت اثبات و قضاوت در خصوص آزارهای جنسی، بررسی وجود مایع منی در نمونه‌های مشکوک به دست آمده از صحنه می‌باشد. با توجه به نوع ارجاع موارد از سوی مراجع قضایی و انتظامی و گوناگونی کیفیت نمونه‌های ارسالی به بخش‌های سرولوژی قانونی و همچنین متغیر بودن فاصله زمانی نمونه‌برداری تا ارسال نمونه به آزمایشگاه، که بستگی به زمان کشف جرم یا مراجعه بزه دیده دارد، تبیین و تفسیر صحیح نتایج آزمایشگاهی ممکن نیست. همچنین اعلام وقوع تجاوز بدون در نظر گرفتن کنش پارامترهای فوق عملی نمی‌باشد؛ لذا، در این پژوهش نتایج حاصله از این روش‌ها، با روش تشخیص PSA به کمک RIA<sup>۲</sup>، به عنوان روش مرجع، مقایسه شده است.

روش بررسی: جامعه مورد پژوهش تصادفی و غیر انتخابی و نمونه‌ها با تنوع زیاد شامل انواع سوآپ‌های رکتال و واژینال، اشیاء آلوده در زمان آزار جنسی، لباس‌های زیر و سایر البسه و حتی قطعات فرش و وسایل موجود در صحنه جرم می‌باشند. ۷۳٪ از جمعیت مورد مطالعه مؤنث و بقیه مذکر می‌باشند. پس از انجام تست «AP» بر روی کلیه نمونه‌ها، نمونه‌های «AP+» تفکیک و برای ادامه بررسی و تحقیق انتخاب شده‌اند. برای شناسایی موارد مثبت کاذب احتمالی تست AP، از آنتی‌ژن اختصاصی پروستات استفاده شده و بدین طریق کلیه ۳۵۰ نمونه دارای تست «AP+»، مجدداً از نظر آنتی‌ژن PSA به دو روش سریع «Rapid» و «RIA» تحت آزمایش قرار گرفته‌اند.

یافته‌ها: جمع‌بندی نتایج حاصله، حاکی از آنست که ۹۵٪ از موارد «AP+» دارای «RIA+» نیز بوده‌اند. از طرفی نتیجه تست PSA به روش Rapid در ۳۵۰ مورد نمونه «AP+» ۷۴٪ گزارش شده است. هرچند بروز نتایج منفی PSA با گذشت زمان نسبت مستقیم دارد ولی این میزان در روش RIA طی ده روز حداکثر تا ۳٪ افزایش در موارد منفی را نشان می‌دهد.

نتیجه‌گیری: هرچند از AP می‌توان به عنوان یک تست پیش فرض با پیش‌بینی مثبت بالا در تشخیص آثار مشکوک منی استفاده کرد و نتیجه مثبت تست PSA به روش Rapid نیز به عنوان یک تست تأییدی مورد نیاز و با ارزش است؛ اما، با توجه به موارد منفی کاذب نسبتاً بالا (۲۱٪) و نیز مشاهده رابطه مستقیم در افزایش نتایج منفی به دنبال گذشت زمان، نتایج منفی آن قابل اتکا نبوده و بایستی با روش‌های دقیق‌تر مثل RIA کنترل و تصحیح شوند.

واژگان کلیدی: اسید فسفاتاز، آنتی‌ژن اختصاصی پروستات (PSA)، RIA، سرولوژی قانونی

تأیید مقاله: ۱۳۹۰/۳/۱۶

وصول مقاله: ۱۳۸۹/۱۰/۱۱

نویسنده پاسخگو: تهران، خیابان بهشت، سازمان پزشکی قانونی کشور، اداره کل امور پژوهشی و نشر منابع علمی سازمان، mk35172@gmail.com

### مقدمه

قانونی در خصوص قربانیان تجاوزات جنسی، با توجه به فقدان شواهد تروماتیک ناحیه ژنییتال (در اکثر موارد)، ضرورت بررسی و اثبات وجود مایع منی را به عنوان مؤید تجاوز، با اهمیت می‌سازد. دو عامل مهم یعنی میزان و تعداد اسپرماتوزئیدها از یک‌سو و زمان تأخیری بین خروج مایع منی (ejaculation) و انجام تست از سوی دیگر، نتایج

با توجه به افزایش جمعیت و به خصوص حاشیه‌نشینی در شهرهای بزرگ و نیز تهاجم فرهنگی، افزایش بروز موارد جرم و جنایت و تجاوز به عنف قابل پیش‌بینی می‌باشد. افزایش معاینات پزشکی

1 Prostate Specific Antigen  
2 Radio Immuno Assay

نرمال واژن تجزیه و تخریب گردیده و احتمال یافتن آن کم می‌شود و لذا تنها برای مدت کوتاهی بعد از تماس جنسی قابل شناسایی می‌باشد (حداکثر ۱۴ ساعت). این تست مثبت کاذب فراوانی دارد زیرا در دیگر مایعات بدن و خیلی از فرآورده‌ها در زندگی روزمره یافت می‌شود. PSA، جزئی از خانواده کالیکرین پروتئازهای سرین می‌باشد که در سلول‌های اپی‌تلیالی غده پروستات ساخته شده و فعالیت این سلول با رسیپتورهای آندروژنی تنظیم می‌گردد. میزان نرمال آن در خون  $4\text{ ng/ml}$  می‌باشد. وزن مولکولی آن حدود ۳۰ کیلودالتون بوده و برای ارزیابی تشخیصی درمانی در کانسر پروستات مورد استفاده می‌باشد (۷). براساس یک مطالعه دیگر میانگین زمانی برای تخریب PSA، حدود ۲۷ ساعت در محیط واژن می‌باشد. در حالی که این زمان برای اسید فسفاتاز ۱۴ ساعت است. غلظت بالای PSA به میزان  $52/7\text{ ng/ml}$  در متد کمی الایزا، برای کیت تست PSA به عنوان مثبت قوی محسوب می‌گردد. در مجموع آرتیفکت‌های ناشی از دیگر ترشحات بدن مرد یا زن و حتی ادرار مرد نیز سطح PSA کاملاً پایین‌تر از این مقدار دارند (۱۰).

بیشتر نمونه‌های ارسالی جهت بخش‌های سرولوژی قانونی، خون‌آلود می‌باشند. تأثیر عوامل مختلفی چون جنس البسه و نمونه‌های ارسالی، فاصله زمانی انجام تجاوز جنسی تا نمونه‌برداری و شروع آزمایش، نحوه نمونه‌برداری و سایر موارد در کسب نتیجه صحیح از آزمایشات نیز بایستی مدنظر قرار گیرند. بدین جهت در تأیید تشخیص آزارهای جنسی، از انجام تست‌های مواری نیز برای دستیابی به روش استاندارد استفاده شده و ارتباط بین نتایج به دست آمده مورد ارزیابی و تحلیل قرار گرفته است:

۱- ارتباط بین نتایج مثبت تست اسید فسفاتاز به روش آلفانفتیل و موارد تجاوز جنسی ۲- ارتباط بین نتایج تست مثبت اسید فسفاتاز به روش PAP با اسید فسفاتاز موجود در RBC و پلاکت‌ها ۳- ارتباط بین نتایج مثبت تست اسید فسفاتاز به روش آلفانفتیل با ترشحات واژینال ۴- ارتباط بین نمونه‌های PAP مثبت و PSA مثبت. بررسی آزمایشگاهی از ۱۰۰ نمونه واژینال مورد بررسی از نظر PSA توسط تست Rapid و مقایسه آن با ELISA نشان می‌دهد که تفاوتی از نظر Specificity و دقت PPV (ارزش پیش‌بینی مثبت) بین دو متد آزمایشگاهی وجود نداشته ولی Sensitivity و NPV (ارزش پیش‌بینی منفی) توسط تست Rapid one-step بهتر از ELISA بوده است؛ لذا محققین در این مطالعه، استفاده از کیت تست ROS برای PSA را در ارزیابی‌های روتین ترشحات واژینال در زنان مورد تجاوز توصیه نموده‌اند. این آزمایش به عنوان یک تست نیمه کمی و ساده با پاسخ سریع، ارزان بوده و به صورت وسیع در امریکا، کشورهای اروپایی، ژاپن و چین و ... مورد استفاده قرار می‌گیرد. در انجام این تست، مایع منی موجود با آنتی بادی کلونیدال رنگی متصل شده، و این ترکیب بر روی ممبران مهاجرت می‌نماید. در صورت وجود PSA در نمونه، کمپلکس رنگی آنتی‌بادی اختصاصی PSA، بر روی ممبران

تست‌های سریع برای مایع منی را تحت تأثیر قرار می‌دهند. بررسی به عمل آمده بر روی ۲۲۷ نمونه مایع منی نشان داد که تأخیر در انجام تست، تفاوتی در نتایج بررسی و شمارش سیتولوژیک در زمان‌های اول ( $T_0$ ) و ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد ایجاد نمی‌نماید (۱).

جرایم فوق علاوه بر ایجاد مشکلات روانی برای فرد بزه دیده و خانواده وی، موجب جریحه‌دار شدن اذهان عمومی نیز می‌گردد، لذا موضوع اثبات جرم براساس ادله صحیح علمی و محکمه‌پسند و مجازات بزهکاران، التیامی برای آسیب‌های فردی و اجتماعی ناشی از بزه خواهد بود (۲).

در بررسی شواهد مقاربت جنسی، تهیه اسمیر از ترشحات واژینال و همچنین استفاده از سوآپ پنبه‌ای از مخاط واژن و ارسال آن به صورت خشک و در ظروف مقوایی، قدم اول محسوب می‌گردد. بررسی لام‌ها جهت شناسایی اسپرم با انجام رنگ‌آمیزی صورت می‌پذیرد که با مثبت شدن آن، بررسی DNA بر روی نمونه‌ها انجام می‌شود. در صورت عدم مشاهده اسپرم، بخشی از سوآپ‌های تهیه شده از ترشحات واژن، مقعد و دهان، جهت آزمایش اسیدفسفاتاز مورد استفاده قرار می‌گیرند؛ در این مرحله در صورت اخذ نتیجه مثبت و ضعیف یا مشکوک در کنار شواهد کیفی پرونده مبنی بر احتمال قوی وقوع مقاربت، بررسی پروتئین P30 یا PSA انجام می‌شود. در برخی موارد علی‌رغم اسیدفسفاتاز منفی، PSA مثبت می‌شود که در این شرایط نیز باید بررسی DNA انجام گیرد.

وجود یا عدم وجود آثار مایع منی از ادله مهم وقوع تجاوز جنسی است که روش‌های معمول تشخیص آن عبارتند از:

۱- جستجوی اسپرم با استفاده از رنگ‌آمیزی سیتولوژی یا بدون رنگ‌آمیزی و به کمک میکروسکوپ فاز کنتراست. بدیهی است که در این روش امکان یافتن اسپرم در موارد آزو اسپرمی یا واکتومی وجود ندارد. ضمن اینکه رؤیت اسپرم فقط در سوآپ‌هایی ممکن است که بلافاصله پس از وقوع تجاوز جنسی نمونه‌برداری شده و به آزمایشگاه ارسال گردند که متأسفانه چنین نمونه‌هایی تیبیکی به ندرت در دسترس آزمایشگاه‌های سرولوژی قانونی قرار می‌گیرند.

۲- استفاده از نشانگرهای زیستی ۱: مایع منی دارای آنزیم اسید فسفاتاز و آنتی‌ژن اختصاصی پروستات PSA یا P30 و سمینوزلین است (۴). تست‌های آزمایشگاهی جهت بررسی اسید فسفاتاز پروستاتی «PAP» و آنتی‌ژن اختصاصی پروستات «PSA» به دلیل سادگی و در دسترس بودن، بیشترین کاربرد را به عنوان نشانگر زیستی مایع منی دارا می‌باشند. آنزیم اسید فسفاتاز علاوه بر غلظت بالا در ترشحات پروستاتیک، در ترشحات مهبلی نیز امکان حضور دارد، که متأسفانه در حال حاضر با روش‌های روتین، تمایز بین فسفاتاز پروستاتیک و فسفاتاز واژینال ممکن نیست. در ضمن این آنزیم در گلبول‌های قرمز و پلاکت‌ها نیز یافت می‌شود (۶). بررسی اسید فسفاتاز فقط به عنوان یک تست غربالی محسوب می‌گردد. این آنزیم به سرعت در محیط

ب- انجام تست PSA: آزمایش PSA با روش ایمونوکروماتوگرافی (membrane Test) با استفاده از کیت ساخت کارخانه Acon انجام شده پس از خارج کردن کارت ریج آماده PSA از یخچال و رسیدن آن به دمای اتاق (حدود ۳۰ دقیقه قبل از انجام آزمایش)؛ ابتدا ۵۰ میکرولیتر از مایع استخراج شده به حفره مخصوص نمونه، تعبیه شده بر روی کارت ریج، ریخته و سپس یک قطره از بافر موجود در کیت PSA را به آن اضافه کرده و به مدت ۱۰ دقیقه در حالت کاملاً افقی، در آزمایشگاه رها شده است. تعداد و محل تشکیل شدن باندهای رنگی، معرف مثبت و یا منفی بودن تست می‌باشد. به این ترتیب که جهت یک تست مثبت تشکیل سه باند رنگی در سه نقطه مختلف لازم است که شامل یک باند در محل کنترل (این باند معرف انجام صحیح تست است)، یک باند در محل مربوط به معرف (که نشانگر درست بودن حلال‌ها و میزان آن‌ها می‌باشد) و باند سوم که معرف وجود PSA در نمونه آزمایش است (۶).

۳- PSA (RIA): با استفاده از نمونه‌های استخراج شده به کمک دستگاه گاما کانتر، میزان PSA تعیین شده است. اساس روش تخصصی PSA به کمک RIA، متد ساندویچ می‌باشد که در آن نمونه‌های حاوی PSA از یک سو با رادیوایزوتوپ  $^{125}\text{I}$  و از یک طرف به آنتی‌بادی بیوتین متصل است و عمل ساندویچ پس از طی زمان انکوباسیون کامل شده، سپس با استفاده از یک دستگاه گاما کانتر، میزان اشعه نشر شده بسته به وجود میزان PSA محیط، اندازه‌گیری شده و به صورت عددی گزارش می‌گردد (۶).

### یافته‌ها

نتایج به دست آمده از آزمایشات انجام شده بر روی نمونه‌های ارسالی به تفکیک روش آزمایش، به اختصار در جداول ۱ و ۲ و ۳ آورده شده‌اند. ۷۳٪ جمعیت مورد پژوهش در آزارهای جنسی زن و ۲۳٪ مرد بوده‌اند که ۷۸٪ از جمعیت زنان، مجرد و ۲۲٪ آنان متأهل می‌باشند. بیشترین مراجعات در فصل بهار (۳۷٪)، کمترین آن در فصل زمستان (۱۳٪) و سیر تعداد مراجعین از بهار تا زمستان، نزولی بوده است. در این تحقیق برای تشخیص موارد اثباتی تجاوز جنسی و حذف موارد مثبت کاذب احتمالی تست اسید فسفاتاز، از شناسایی آنتی ژن PSA، که در ترشحات واژن وجود ندارد، استفاده شده است. لذا در ۳۵۰ مورد نمونه دارای تست AP مثبت، به دو روش Rapid و RIA، تست PSA به عمل آمده که نتایج در جداول موجود در بخش یافته‌ها ذکر شده‌اند (جداول ۲ و ۱).

از مجموع نمونه‌های ارسالی به آزمایشگاه پزشکی قانونی، ۱۶٪ سواپ واژینال، ۹٪ سواپ رکتال، ۳۲٪ لباس زیر، ۲۶٪ سایر البسه و ۱۷٪ سایر موارد شامل دستمال کاغذی، کاندوم، موکت و ... بوده‌اند. از مجموع نمونه‌های ارسالی، ۸۷ نمونه شامل سواپ‌های واژینال و رکتال بوده که ۶۰٪ آن‌ها در فاصله ۲۴ ساعت پس از تجاوز جنسی و

تشکیل خواهد شد. این آزمایش برای نشان دادن PSA در حد ۴ng/ml طراحی شده ولی حداقل سطح مورد نیاز جهت اندازه‌گیری در تست الیزا ۵mg/ml/۰ می‌باشد (۷).

### روش بررسی

روش مطالعه مورد شاهده می‌باشد. جامعه مورد تحقیق عبارتست از کلیه نمونه‌های ارسالی به آزمایشگاه سرولوژی قانونی، اعم از اشیاء و ابزارآلات جمع‌آوری شده از صحنه جرم، البسه آلوده، سوآپ‌های رکتال و واژینال تهیه شده از افراد یا اجساد مشکوک به تجاوز جنسی که توسط مراجع قضایی و یا با معرفی از سوی مراجع قضایی طی سال‌های ۸۵ الی ۸۷ به آزمایشگاه پزشکی قانونی خراسان رضوی ارسال شده‌اند. در فرم‌های تدوین شده جهت تحقیق، ابتدا شماره و تاریخ دریافت نمونه، و سپس تاریخ تقریبی وقوع تجاوز جنسی با استفاده از اطلاعات ارایه شده توسط شاکای یا مراجع قضایی یا پزشک قانونی مشخص و ذکر گردیده و سپس سایر مشخصات عمومی و قابل دسترس «نمونه» مثل نحوه بسته‌بندی، نوع و جنس نمونه - میزان آلودگی - نوع آلودگی (خون، ترشحات واژینال یا رکتال، کپک، آلودگی خاک، آلودگی‌های مدفوعی و سایر) - میزان رطوبت و غیره نیز جهت استفاده در مراحل بعدی در پرسشنامه درج گردیده است. پس از نمونه‌برداری از اشیاء و البسه ارسالی و انجام تست AP بر روی کلیه آن‌ها، تمامی نمونه‌های دارای تست «اسید فسفاتاز مثبت» به عنوان نمونه شاهد «Control» انتخاب شده و سپس تست PSA به دو روش Rapid و RIA روی آن‌ها انجام شده است. نمونه‌هایی که در آن‌ها تست PSA با هر دو روش «Rapid» و «RIA» دارای نتیجه مثبت بوده‌اند به عنوان گروه مورد (Case) نامیده شده‌اند. لذا در این پژوهش کلیه نمونه‌های دارای پاسخ تست «AP منفی» حذف شده‌اند. نتایج حاصله از تست PSA به روش RIA نیز در فرم‌های بانک اطلاعاتی ثبت شده‌اند.

آزمایش‌های انجام گرفته بر روی هر یک از نمونه‌ها عبارتند از:  
۱- تست AP ۲- Rapid PSA ۳- PSA (RIA)  
۱- تست AP (آزمایش اسید فسفاتاز):

ابتدا محلول Alpha-naphthyl phosphate تهیه شده (۰/۰۲ gr) پودر آلفانفتیل در ۱ cc آب مقطر + ۵۰ لاند اسید استیک گلاسیال، سپس نمونه‌های ارسالی با استفاده از کمی نرمال سالین خیس شده و آثار احتمالی وجود مایع منی بر روی کاغذ واتمن منتقل گردیده است (۶). سپس با استفاده از محلول فوق، آثار مایع منی مورد بررسی قرار گرفته و براساس سیستم PLUS و زمان ایجاد رنگ حاصل از واکنش، به صورت ۱+ تا ۴+ گزارش شده است.

۲- Rapid PSA: الف - استخراج نمونه: قسمتی کوچکی از نمونه‌های مثبت از نظر PAP را به یک لوله آزمایش ۲۰×۱۰۰ mm منتقل و با ۱ cc نرمال سالین به مدت ۲۴ ساعت، جهت استخراج بهتر PSA، در یخچال انکوبه شده است.

### بحث و نتیجه گیری

در تحقیق انجام شده بر روی نمونه‌های واژینال، بررسی حساسیت و ویژگی تست اسید فسفاتاز و PSA مورد مقایسه قرار گرفته و نتایج حاصله مؤید کارآیی اثبات شده تست PSA به عنوان یک نشانگر زیستی به منظور تأیید نهایی نتایج اسید فسفاتاز نیمه کمی می‌باشد (۱۲). در مطالعه‌ای که بر روی ۴۵۱ نفر از قربانیان تجاوز جنسی در دالاس انجام گرفته است، در نمونه‌برداری از ترشحات واژینال قربانیان در ۴۷٪ موارد اسپرم مشاهده گردید، که در ۱۹/۳٪ آن‌ها اسپرم متحرک بوده است. در صورت عدم مشاهده اسپرم، بخشی از سوآپ‌های دهانی، مقعدی و واژینال جهت آزمایش اسید فسفاتاز مورد استفاده قرار می‌گیرند که در موارد مشکوک یا ضعیف بودن تست اسید فسفاتاز با بررسی پروتئین P۳۰، به عنوان مارکر اختصاص مایع منی، تجاوز اثبات می‌گردد (۸). در بلژیک، علیرغم سابقه چندین دهه در تجاوزات جنسی، ارزیابی کلینیکی پزشکی قانونی دارای برنامه نسبتاً جدیدی شده و روش استاندارد برای نحوه مواجهه با قربانیان طراحی گردیده است (۱۴).

در برخی موارد که بدون شک، تجاوز رخ داده است، اسپرم شناسایی نمی‌شود. این امر می‌تواند به دلیل استفاده از کاندوم، عدم انزال، بیرون ریختن منی و یا فقدان اسپرم در مایع منی به دلیل واژکتومی و یا بیماری فرد متجاوز باشد. در موارد فوق استفاده از مارکرهایی که بتوان با شناسایی آن‌ها در این گونه موارد به اثبات تجاوز کمک نمود مورد توجه قرار گرفته‌اند. اسید فسفاتاز با غلظت بسیار بالا در مایع منی وجود دارد و معمولاً برای ۲۴-۱۸ ساعت پس از نزدیکی و در مواردی تا ۷۲ ساعت در واژن باقی می‌ماند. لازم به ذکر است که بالاترین سطح PAP در ۱۲ ساعت اول بعد از نزدیکی مشاهده می‌شود. گلیکوپروتئین مخصوص منی (PSA یا P۳۰) با منشأ پروستات، تنها در منی وجود دارد و در هیچ مایع و ترشحاتی در جنس مؤنث یافت نمی‌شود. این فاکتور در هر دو حالت منی واجد و فاقد اسپرم یافت می‌شود و در ترشحات واژن برای مدت متوسط ۲۷ ساعت قابل شناسایی است. تمام نمونه‌های به دست آمده پس از ۴۸ ساعت از نظر PSA منفی می‌شوند. در یک مطالعه در ۲۶٪ موارد PSA مثبت با اسید فسفاتاز منفی، مقاربت صورت گرفته بود (۸).

این موضوع حائز اهمیت است که به خاطر داشته باشیم، عدم وجود اسپرم یا شواهد مایع منی، نمی‌تواند اثبات کننده عدم حدوث تماس جنسی اخیر باشد. مطالعات نشان می‌دهند که ۳۴٪ یا بیشتر از متجاوزین جنسی، اختلال عملکرد جنسی داشته‌اند و بیشتر از ۴۰٪ آن‌ها از کاندوم استفاده کرده‌اند. در مطالعه‌ای نتایج بررسی بر روی ۱۰۰۷ مورد تجاوز جنسی در معاینه قربانیان نشان می‌داد که اسپرم از ۲۱۰ مورد تماس رکتال، در ۲٪ موارد مثبت بوده، در ۱۱۱ نمونه تست پوستی، ۱۹٪ مثبت و در ۹۱۹ مورد که تماس واژینال داشته‌اند، ۳۷٪ برای اسپرم مثبت بوده است؛ این در حالیست که، اسید فسفاتاز

جدول ۱- فراوانی نتایج مثبت و منفی Rapid PSA بر روی ۳۵۰ مورد نمونه PAP مثبت

نوع آزمایش	فراوانی/درصد	تعداد	درصد
Rapid PSA مثبت		۲۶۰	۷۴٪
Rapid PSA منفی		۹۰	۲۶٪
جمع		۳۵۰	۱۰۰٪

جدول ۲- فراوانی نتایج مثبت و منفی تست PSA (RIA) در ۳۵۰ مورد نمونه PAP مثبت

نوع آزمایش	فراوانی/درصد	تعداد	درصد
RIA PSA مثبت		۳۳۲	۹۵٪
RIA PSA منفی		۱۸	۵٪
جمع		۳۵۰	۱۰۰٪

جدول ۳- فراوانی نتایج کیفی تست اسید فسفاتاز مثبت در نمونه های ارسالی

سرعت پاسخ به تست	تعداد	درصد
+۱	۲۳	۷٪
+۲	۶۷	۱۹٪
+۳ تا +۴	۲۶۰	۷۴٪
جمع	۳۵۰	۱۰۰٪

(+۱) پاسخ تست رنگی در کمتر از ۲ دقیقه، +۲: پاسخ تست رنگی کمتر از یک دقیقه، +۳ تا +۴: پاسخ تست رنگی کمتر از ۱۰ ثانیه)

بقیه در فاصله ۴۸ ساعت بعد تهیه شده‌اند. انجام تست PSA به روش Rapid در دو بازه زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از Rape نشان دهنده افزایش چشمگیر نتایج منفی این تست با گذشت زمان می‌باشد؛ به نحوی که، سوآپ‌های تهیه شده تا ۲۴ ساعت پس از تجاوز، ۳۴٪ منفی و سوآپ‌های پس از ۴۸ ساعت، ۴۷٪ منفی بوده‌اند. در حالی که انجام تست با روش RIA بر روی نمونه‌های فوق، بیانگر ۶٪ مورد منفی در نمونه‌های ۲۴ ساعته و ۱۲٪ پاسخ منفی در نمونه‌های ۴۸ ساعته بوده است.

مثبت یا منفی تست AP ندارد. در ضمن با توجه به تنوع جنسی نمونه‌های ارسالی و احتمال مداخله نوع الیاف نمونه‌ها در جذب و نگهداری آثار مایع منی، جنس شئی دارای لکه یا آلودگی مشکوک نیز در پژوهش مدنظر قرار گرفته است، اما از آنجا که تعداد نمونه‌های دریافتی آزمایشگاه سرولوژی قانونی، که به سه دسته کلی الیاف پنبه‌ای، الیاف مخلوط و الیاف مصنوعی تقسیم شده‌اند، یکسان نبوده است؛ لذا، امکان بررسی این مداخله و برقراری رابطه منطقی بین نتایج تست PSA و جنس الیاف میسر نشده است.

در یک گزارش، موردی از به کارگیری کیت تست PSA به عنوان یک نوآوری در تحقیقات تجاوزات جنسی در تایلند، جسد یک زن ۳۰ ساله که پس از Rape به قتل رسیده بود، مورد بررسی‌های آزمایشگاهی قرار گرفت. تست PSA با ELISA مؤید تست انجام شده با کیت تست Rapid می‌باشد و بدین لحاظ توصیه به استفاده از این کیت علاوه بر انجام تست اسید فسفاتاز و تهیه اسمیر جهت اسپرم در تجاوز جنسی، در تایلند، مورد تأکید قرار گرفته است. هر چند مشاهده میکروسکوپی اسپرماتوزوئید یک متد استاندارد طلائی برای اثبات تهاجم اخیر به زنان می‌باشد، بدیهی است اگر مرد مهاجم

جدول ۴- مقایسه فراوانی نتایج منفی در بررسی PSA به روش Rapid و RIA بر اساس فاصله زمانی تهیه نمونه تا انجام آزمایش

فاصله زمانی	تعداد نمونه با تست Rapid	تعداد نمونه با تست RIA
کمتر از ۵ روز	۱۲	۳
بین ۵-۱۰ روز	۳۵	۴
بیش از ۱۰ روز	۴۳	۱۱
جمع	۹۰	۱۸

جدول ۵- مقایسه فراوانی نتایج بررسی PSA در روش‌های Rapid و RIA بر روی سوآپ‌های واژینال و رکتال

نتایج تست PSA	تست Rapid واژینال (تعداد)	تست RIA واژینال (تعداد)	تست Rapid رکتال (تعداد)	تست RIA رکتال (تعداد)
مثبت PSA	۳۷	۵۲	۱۸	۲۸
منفی PSA	۱۹	۴	۱۳	۳
جمع	۵۶	۵۶	۳۱	۳۱

در تماس‌های رکتال ۱۲٪، نمونه‌های پوستی ۴۳٪ و در تماس‌های واژینال ۶۲٪ موارد مثبت بوده است (کلیه معاینات در طی ۴ ساعت اول بعد از تماس جنسی انجام شده‌اند). در مطالعه دیگر در مقایسه PAP و PSA، ۲۱۲ زن با تماس جنسی رضایتمندانه در طی چهار روز معاینه گردیدند. در ۵۹٪ موارد هر دو تست مثبت بوده، AP در ۸۴٪ موارد و PSA در ۶۰٪ موارد در این مدت زمان مثبت بوده‌اند. فقط در ۲٪ مواردی که PSA مثبت بوده، اسید فسفاتاز منفی گزارش شده، درحالی که PSA در ۲۵٪ مواردی که اسید فسفاتاز مثبت بوده، منفی گزارش شده است (۱۱).

در مطالعه دیگری در فنلاند، تست PSA در ۶۴٪ اجساد مذکر که دارای فساد پیشرفته بوده‌اند مثبت شده و این تست در ۱۹ جسد با فساد کمتر، واکنش قوی نداشته است؛ این مطالعه نتیجه گرفته که تست‌های ممبران PSA، غیرقابل اعتماد بوده و در شرایط پس از مرگ به ویژه اگر از ناحیه رکتال مردان گرفته شوند سبب انحراف در استنتاج نهایی خواهند شد (۱۳).

در تحقیق ما ۹۵٪ از موارد «AP مثبت» در تست، RIA «PSA» مثبت نیز بوده‌اند؛ بنابراین، از AP می‌توان به عنوان یک تست پیش فرض Presumptive با پیش‌بینی مثبت بالا (P.P.V) در تشخیص آثار تجاوز جنسی استفاده کرد (جدول شماره ۲). از طرفی نتیجه مثبت تست PSA به روش Rapid در ۳۵۰ مورد نمونه AP مثبت، ۷۴٪ گزارش شده است؛ لذا، نتیجه مثبت تست PSA Rapid به عنوان یک تست تأییدی قابل قبول است اما باتوجه به موارد منفی کاذب نسبتاً بالا (۲۱٪) در مقایسه با روش RIA اعلام مورد منفی قابل اتکا نبوده و حتماً بایستی با تست دقیق‌تری مثل RIA کنترل شود (جدول ۶ و ۵).

به دلیل حساسیت کم و افت نتایج مثبت با گذشت زمان، امکان بروز نتیجه منفی کاذب Rapid PSA دور از ذهن نیست؛ لذا، در این پژوهش روش مرجع (Gold standard)، که روش RIA است، برای تأیید موارد تجاوز جنسی پیشنهاد می‌شود.

در مطالعه انجام شده در تایلند تست الیزا و تست Rapid (یک مرحله‌ای)، در قربانیان تجاوز جنسی، مورد مقایسه قرار گرفته‌اند که از نظر اختصاصی بودن، دقت و ارزش پیش‌بینی مثبت (PPV) تفاوتی نداشته‌اند؛ ولی از جهت حساسیت و ارزش پیش‌بینی منفی (NPV)، کیت‌های تست سریع یک مرحله‌ای از الیزا بهتر بوده‌اند؛ بنابراین مطالعه مذکور، استفاده از این تست را در زنان قربانی تجاوز واژینال پیشنهاد داده است (۱۵).

حدود ۴٪ از مجموع نمونه‌های مشکوک به آلودگی مایع منی ارسالی به آزمایشگاه سرولوژی قانونی، دارای آلودگی خون نیز بوده‌اند که تمامی این نمونه‌ها، دارای نتیجه PSA مثبت با هردو روش PSA و RIA می‌باشند؛ لذا، نتیجه‌گیری می‌شود علیرغم وجود مقادیر کم آنزیم اسید فسفاتاز در گلبول‌های قرمز، آلودگی خون تأثیری در نتایج

1 - Positive predictive value



بررسی نتایج حاصله، تست PSA در هر دو روش Rapid و RIA در ۵٪ موارد منفی بوده و در ۲۱٪ موارد با تست Rapid منفی و RIA مثبت گزارش گردیده است. به عبارت دیگر نتایج منفی PSA با روش Rapid با گذشت زمان افزایش چشمگیر داشته‌اند، در حالی که رشد نتایج منفی در تست PSA با روش RIA با فاصله زمانی بیش از ده روز، حداکثر به میزان ۳٪ بوده است و بنابراین ارزش پیش بینی مثبت (PPV) در روش RIA، وجود مایع منی را تأیید می‌نماید.

#### تقدیر و تشکر

مقاله محصول انجام یک طرح پژوهشی به شماره ۱۸۵ و با حمایت مالی معاونت آموزشی و پژوهشی سازمان پزشکی قانونی کشور بوده که از همراهی و همکاری این معاونت تقدیر می‌گردد، همچنین از مدیرکل محترم سازمان پزشکی قانونی خراسان رضوی جناب آقای دکتر حمید محبتی (ناظر محترم طرح) و نیز همکاران محترم آقایان دکتر بردبار، دکتر علی پور، مهندس نصری و سایر پرسنل ارجمند آزمایشگاه مرکز پزشکی قانونی خراسان رضوی که ما را در انجام این پژوهش یاری فرمودند سپاسگزاریم.

#### References

- Nadia khaldi, Alain Miras, koffi Botti Evaluation of three Rapid Detection Methods for the Forensic identification of Seminal Fluid in Rape cases. *J Forensic Sci*; 2004; (4).
- F.Goodarzi, M. Kiani. Forensic medicine for the students of law; 2007: 122 – 124.
- Richard A. Mcpherson Matthew R. pincus. Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods ed; 2007: 255-256 , 1362-1363.
- Harriette L. Hampton. Care of the Woman Who Has Been Raped. *New England Journal of Medicine*. 1995; 331: 234-237.
- C.A.Burtis, E.R. Ashwood. *Fundamental of clinical chemistry* ed. 2007: 120- 140.
- 1- Kamenev L, Leclerc M, Francois-Gerard-c. Detection of p30 Antigen in sexual assault case material *J.Forensic Sci Soc*. 1990; 30:193-200
- Vichan Peonim, T. chirach. comparable between Rapid one step Immunochromatographic assay and ELISA in the detection of PSA in vaginal specimens of raped women. *J Med Assoc*. 2007; 90: (12).
- Vincent J.Dimaio. *Forensic Pathology* ed; 200: 440-444
- Jate talhip. An autopsy report case of victim by the application of PSA test kit. *Journal Medicine* Thail. 2007; 90 (2).
- Hoof Pj , Van de Voorde HP. Interference of body products, food and products from daily life with the modified zinc test and the acid phosphatase test. *Forensic Science International*. 1994; 66: 187-96.
- Linde E. Ledracy. The SANE-SART response-Violence against women online resources- 2001.
- Negahbani A. Ghodousi A. Investigation of sensitivity & specificity of acid phosphatase test & PSA in identification of seminal fluid in vaginal swab. *Scientific Journal of Forensic Medicine*; 13 (3):187-192.
- Lunetta P, Sippel H. Positive prostate-specific antigen (PSA) reaction in post-mortem rectal swabs: a cautionary note. *Journal of Forensic Legal Medicine*. 2009; 16(7): 397-9.
- De Munnynck K, De Houwer L, Bronselaer K. Medico-legal approach to sexual assault victims: the Belgian situation. *Journal of Clinical Forensic Medicine*. 2006; 13(4): 211-4.
- Peonim V, Chirachariyavej T, Atamasirikul K, Talhip J. Comparable between rapid one step immunochromatographic assay and ELISA in the detection of prostate specific antigen in vaginal specimens of raped women. *Journal of Medical Association of Thailand* .2007; 90(12)2624-9.

# Investigation of PSA Antigen in 350 Probable Raped Cases with Positive Acid Phosphatase Test

Mohammad Kazemeian\*† - Amir Bashian\*\* - Danial Zarif \*\*\* - Maryam Ghafoorian \*\*\* -  
Hamid Mohebati\*\*\*\*

\*MD, Forensic Medicine Specialist, Legal Medicine Organization

\*\*MD, Anatomoclinical Pathologist, Khorasan Razavi Legal Medicine Center

\*\*\*B.S.C.in Serology of Khorasan Razavi Legal Medicine Center

\*\*\*\*MD, Forensic Medicine Specialist, Khorasan Razavi Legal Medicine Center

## Abstract

**Background:** Generally, semen detection in samples referred to the forensic lab is used to assume that the rape has occurred. Due to different samples contamination that referred to the forensic lab and the difference of time intervals between sampling and sending them to the serological lab, the obtained results may be different. So, in this study the sensitivity and specificity of a routine test as "AP" and "Rapid PSA" are compared with "RIA PSA assay" as a Gold standard method.

**Methods:** This study is done on random with different samples; for example, different sources, rectal or vaginal soabs – the things has been used at the rape time – clothes, carpet and other things had been found at a crime scene. After performing the "AP" test, all positive tests are selected to compared with another method, (PSA rapid and PSA RIA test). For detection of a false positive "AP" test, 350 positive "AP" are selected to test by PSA Rapid and RIA methods.

**Findings:** 1- 95% of "positive AP reaction" samples were positive in "PSA RIA" method too .

2- 74% of "positive AP reaction" samples were positive in PSA rapid method.

3- The more given time after sampling, the more negative test results are coming. For example after 10 days, the negative results increased by 3%.

**Conclusion:** The "AP" method has high positive predictive value and the "rapid PSA" is the preferred method for confirmation of a positive "AP" result; but, because of increasing false negative results with time, it's negative predictive isn't valuable and must be adjusted by an accurate method such as PSA.

**Key words:** Acid phosphatase (AP), Prostatic Specific antigen (PSA), RIA method, Forensic serological lab.

Received: 1 Jan 2011

Accepted: 6 Jun 2011

†Correspondence: Research Dep, Legal Medicine Organization, Behesht St, Tehran, Iran

Email: mk35172@gmail.com