

# OPTIMITZACIÓ DE PROCESSOS DE CENTRIFUGACIÓ DE LA LISI DIFERENCIAL EN MOSTRES D'AGRESSIÓ SEXUAL I VALIDACIÓ DEL KIT VERIFILER™ PLUS

## TREBALL FINAL DE MÀSTER

INSTITUT NACIONAL DE TOXICOLOGIA I CIÈNCIES FORENSES DE BARCELONA

**Clàudia Rovira Bilbeny**

Universitat Rovira i Virgili

*Màster en genètica, física i química forense*

Tutor professional: Alex Pifarre Rubbel / Miguel Paredes Herrera

Tutor acadèmic: Esther Rodríguez Gallego

Juny 2025

## Resum

Les agressions sexuals representen un dels delictes amb major impacte social i comporten una elevada demanda d'anàlisi als laboratoris forenses. Davant de l'augment d'aquests casos, és evident la necessitat d'optimitzar els procediments analítics per accelerar la resposta per part del laboratori sense comprometre la qualitat dels resultats. El present estudi se centra en l'optimització del procés de lisi diferencial, tècnica clau pel processament de mostres biològiques mixtes; especialment en la fase de centrifugació, amb la finalitat d'obtenir els paràmetres de treball per un nou equip automatitzat que s'introduirà en el procés de treball del laboratori de l'Institut Nacional de Toxicologia i Ciències Forenses de Barcelona.

S'han dissenyat i comparat tres protocols de centrifugació diferents, utilitzant mostres a diverses concentracions i simulant condicions reals amb material biològic seminal i cèl·lules d'epiteli bucal. Els resultats obtinguts a través del sistema Metafer, un microscopi automatitzat amb intel·ligència artificial, han permès avaluar l'eficiència de separació cel·lular mitjançant el recompte d'espermatozoides. Paral·lelament, s'ha realitzat l'amplificació i l'anàlisi de l'ADN mitjançant el kit VeriFiler™ Plus, amb la finalitat de validar la seva sensibilitat, repetibilitat, reproductibilitat, entre d'altres.

Els resultats mostren que els protocols adaptats a l'equip automatitzat, amb centrifugació a 2.000 xg durant 10 minuts, són igualment vàlids per a la detecció d'espermatozoides en mostres de concentracions variades. A més, el kit VeriFiler™ Plus ha demostrat tenir una elevada sensibilitat, que permet obtenir un perfil genètic vàlid fins a 20 pg d'ADN a condicions màximes.

Aquest estudi contribueix al desenvolupament de metodologies més eficients per a l'anàlisi forense de mostres biològiques, afavorint l'automatització dels processos i millorant el temps de resposta en contextos de gran demanda.

**Paraules clau:** agressions sexuals, lisi diferencial, centrifugació, espermatozoides, automatització de processos, VeriFiler™ Plus

## Resumen

Las agresiones sexuales representan uno de los delitos con mayor impacto social y suponen una elevada demanda de análisis en los laboratorios forenses. Ante el aumento de estos casos, resulta evidente la necesidad de optimizar los procedimientos analíticos para acelerar la respuesta del laboratorio sin comprometer la calidad de los resultados. El presente estudio se centra en la optimización del proceso de lisis diferencial, técnica clave para el procesamiento de muestras biológicas mixtas; especialmente en la fase de centrifugación, con el objetivo de obtener los parámetros de trabajo para un nuevo equipo automatizado que se incorporará al flujo de trabajo del laboratorio del Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses de Barcelona.

Se han diseñado y comparado tres protocolos de centrifugación diferentes, utilizando muestras a diversas concentraciones y simulando condiciones reales con material biológico seminal y células de epitelio bucal. Los resultados obtenidos mediante el sistema Metafer, un microscopio automatizado con inteligencia artificial, han permitido evaluar la eficiencia de separación celular mediante el recuento de espermatozoides. Paralelamente, se ha llevado a cabo la amplificación y el análisis del ADN mediante el kit VeriFiler™ Plus, con el fin de validar su sensibilidad, repetibilidad, reproducibilidad, entre otros aspectos.

Los resultados muestran que los protocolos adaptados al equipo automatizado, con centrifugación a 2.000 xg durante 10 minutos, son igualmente válidos para la detección de espermatozoides en muestras de distintas concentraciones. Además, el kit VeriFiler™ Plus ha demostrado una alta sensibilidad, permitiendo obtener un perfil genético válido a partir de tan solo 20 pg de ADN a condiciones máximas.

Este estudio contribuye al desarrollo de metodologías más eficientes para el análisis forense de muestras biológicas, favoreciendo la automatización de los procesos y mejorando el tiempo de respuesta en contextos de alta demanda.

**Palabras clave:** agresiones sexuales, lisis diferencial, centrifugación, espermatozoides, automatización de procesos, VeriFiler™ Plus

## **Abstract**

Sexual assaults are among the crimes with the greatest social impact and result in a high demand for analysis in forensic laboratories. In light of the increasing number of such cases, it is clear that there is a need to optimize analytical procedures in order to accelerate laboratory response times without compromising result quality. This study focuses on optimizing the differential extraction process, a key technique in processing mixed biological samples—especially the centrifugation phase—with the aim of establishing working parameters for a new automated device that will be implemented in the workflow of the National Institute of Toxicology and Forensic Sciences in Barcelona.

Three different centrifugation protocols were designed and compared, using samples at various concentrations and simulating real conditions with seminal biological material and buccal epithelial cells. The results obtained via the Metafer system, an AI-assisted automated microscope, enabled evaluation of cell separation efficiency through sperm cell counting. In parallel, DNA amplification and analysis were conducted using the VeriFiler™ Plus kit to validate its sensitivity, repeatability, and reproducibility, among other factors.

The results indicate that the protocols adapted to the automated equipment, using centrifugation at 2,000 xg for 10 minutes, are equally valid for sperm detection in samples of varying concentrations. Furthermore, the VeriFiler™ Plus kit demonstrated high sensitivity, enabling valid genetic profiles from as little as 20 pg of DNA under maximum conditions.

This study contributes to the development of more efficient methodologies for the forensic analysis of biological samples, promoting process automation and improving response times in high-demand contexts.

**Keywords:** sexual assaults, differential extraction, centrifugation, sperm cells, process automation, VeriFiler™ Plus