



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS DE SALUD

CARRERA LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO

**TESINA DE GRADO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
LICENCIADOS EN CIENCIAS DE LA SALUD MENCIÓN
LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO**

TEMA:

**“DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA P-30 Y RASTREO DE
ESPERMATOZOIDES EN PERSONAS VÍCTIMAS DE AGRESIÓN
SEXUAL EN EL CENTRO DE INVESTIGACIÓN DE CIENCIAS
FORENSES-TUNGURAHUA EN EL PERÍODO ENERO-AGOSTO
2015.”**

Autores:

**Jhomayra Michael Cisneros Valencia.
Carla Gabriela Villarroel Villarroel.**

Tutor:

Lic. Verónica Cáceres.

**Riobamba-Ecuador
2016.**

CERTIFICACIÓN DEL TRIBUNAL

El tribunal de defensa privada conformada por la Lic. Elena Brito Presidente del tribunal; Lic. Verónica Cáceres Miembro del tribunal y la Lic. Mercedes Balladares Miembro del tribunal, certifican que las señoritas: **Jhomayra Michael Cisneros Valencia** portadora de la cédula **0202141685** y **Carla Gabriela Villarroel Villarroel** portadora de la cédula **0604077362**, egresadas de la carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico de la Universidad Nacional de Chimborazo, se encuentran aptas para el ejercicio académico de la defensa pública de la tesina previo a la obtención del título de Licenciadas en Ciencias de la Salud en Laboratorio Clínico e Histopatológico con el tema de investigación: **“DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA P30 Y RASTREO DE ESPERMATOZOIDES EN PERSONAS VÍCTIMAS DE AGRESIÓN SEXUAL EN EL CENTRO DE INVESTIGACIÓN DE CIENCIAS FORENSES-TUNGURAHUA EN EL PERÍODO ENERO-AGOSTO 2015.”**

Una vez que han sido realizadas las revisiones periódicas y ediciones correspondientes a la tesina.

Lic. Elena Brito

Presidente del tribunal

Lic. Verónica Cáceres

Miembro del tribunal

Lic. Mercedes Balladares

Miembro del tribunal

ACEPTACION DEL TUTOR (A)

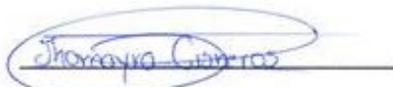
Por la presente, hago constar que he leído el protocolo del Proyecto de Grado presentado por las señoritas **CISNEROS VALENCIA JHOMAYRA MICHAEL** y **VILLARROEL VILLARROEL CARLA GABRIELA** para optar al título de licenciadas en Laboratorio Clínico e Histopatológico, y que acepto asesorar a las estudiantes en calidad de tutora, a las ejecutoras de la investigación durante la etapa del desarrollo del trabajo hasta su presentación y evaluación.



Lic Verónica Cáceres M.

DERECHOS DE AUTORÍA

Nosotras Jhomayra Michael Cisneros Valencia y Carla Gabriela Villarroel Villarroel somos responsables de las ideas, doctrinas, pensamientos y resultados expuestos en el presente trabajo investigativo y los derechos de autoría pertenecen a la Universidad Nacional de Chimborazo.



Jhomayra Michael Cisneros Valencia
C.I.0202141685



Carla Gabriela Villarroel Villarroel
C.I. 0604077362

DEDICATORIA:

Dedico el presente trabajo a mi hija Camila quien es la mayor inspiración de mi vida, por quien he luchado y lucharé por alcanzar mis sueños y ser mejor cada día.

A mis familiares y amigos que me apoyaron y motivaron a conseguir este logro.

Carla Gabriela Villarroel Villarroel

Con mucho orgullo dedico este esfuerzo investigativo a mi madre Marcia Valencia y a mi ángel Gustavo Valencia, por ser mi luz, mi guía, mi inspiración y mi apoyo incondicional y por haber depositado en mí todo su amor, fé y confianza.

A todos y cada una de las personas que me desearon éxitos o que simplemente contribuyeron en este logro.

Jhomayra Michael Cisneros Valencia.

AGRADECIMIENTO

Agradecemos principalmente a DIOS por haber guiado nuestras vidas e iluminado el camino del saber. A nuestra familia por su apoyo incondicional en el transcurso de nuestra carrera. Y también agradecemos a la UNACH y a sus docentes.

Quienes han impartido sus conocimientos, que ahora lo vamos a poner en práctica en nuestra vida profesional.

Jhomayra y Carla

RESUMEN

El estudio de las manchas de semen tiene gran importancia en la criminalística, pues al igual que la sangre, constituye una prueba muy precisa. Debido a su procedencia, su estudio generalmente se encuentra asociado a delitos que afectan las buenas costumbres y el buen orden de las familias, por ejemplo; casos de violación, acto carnal con menores y el ultraje al pudor, entre otros. En todos los casos, el informe pericial que emite el experto adquiere fundamental importancia para la investigación, esclarecimiento del hecho y calificación legal. Dentro del Código Orgánico Integral Penal ecuatoriano se clasifica los tipos de agresión sexual y se establece la condena al acusado según los artículos 166, 167, 170, 171, 173 y 175.

Entre los ensayos inmunocromatográficos para la detección de proteína P-30 que se comercializan, se encuentran pruebas como PSA-check-1; Seratec® PSA Semiquant y One Step ABACard PSA.

El kit ABACard PSA es el más empleado en el área forense, este utiliza anticuerpos monoclonales antiP-30 humanos que se unen al antígeno prostático específico (P-30) formando un complejo antígeno-anticuerpo. El límite inferior de detección es de 4 ng/mL, por lo que una muestra que contenga una cantidad igual o superior, es evidenciada por la prueba, determinando un resultado positivo.

La visualización microscópica de espermatozoides sigue siendo considerada la prueba definitiva para la demostración de esperma en los laboratorios de biología forense.

La técnica Kernechtrol-Picroíndigocarmín KPIC o Árbol de Navidad se utiliza de forma corriente como tinción identificativa de células espermáticas. Este método se caracteriza por discernir principalmente espermatozoides completos o cabezas de espermatozoide de células no espermáticas, bien células epiteliales o levaduras, que regularmente están presentes en las muestras procedentes de una agresión sexual. La composición de la técnica es de sulfato de aluminio, nuclear Fast Red, ácido pícrico e índigo carmín.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CENTRO DE IDIOMAS

ABSTRACT

The study of semen stains is of great importance in criminology, because like blood, is a very accurate test. Because of their origin, their study is generally associated with crimes affecting decency and good order of families, for example; cases of rape, sexual act with a minor and indecent assault, among others. In all cases, the expert report issued by the expert takes on fundamental importance for research, clarification of the facts and legal qualification. Within the Ecuadorian Organic Criminal Code, types of sexual assault is classified and sentence under the articles 166, 167, 170, 171, 173 and 175.

Among the immunochromatographic assays for the detection of P-30 protein which are marketed, tests are as PSA-check-1; Seratec® SemiQuant PSA and PSA One Step ABACard.

The kit ABACard PSA is the most used in forensics, this uses Antip-30 that bind to human prostate specific antigen (P-30) forming an antigen-antibody complex monoclonal antibodies. The lower detection limit is 4 ng / mL, so a sample containing an equal amount or greater, is evidenced by the test, determining a positive result. Microscopic visualization of sperm is still considered the definitive test for sperm demonstration in forensic biology laboratories. The Kernechtrot-Picroindigocarmin KPIC or Christmas tree technique is used as identifying current form staining sperm cells. This method is characterized by mainly discern complete sperm or sperm heads of non-sperm cells, either epithelial cells or yeasts, which are regularly present in samples from sexual assault. The composition of the technique is aluminum sulfate, Nuclear Fast Red, picric acid and indigo carmine.

Reviewed by

Ing. Paul Obregon M.
DOCENTE DEL CENTRO DE IDIOMAS
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD



ÍNDICE GENERAL

PORTADA	I
CERTIFICACIÓN DEL TRIBUNAL.....	II
ACEPTACIÓN DEL TUTOR.....	III
DERECHOS DE AUTORÍA.....	IV
DEDICATORIA.....	V
AGRADECIMIENTO.....	VI
RESUMEN.....	VII
ABSTRACT.....	VIII
INTRODUCCIÓN	- 1 -
CAPÍTULO I	- 3 -
TEMA	- 3 -
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:	- 3 -
1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA:	- 4 -
1.3. OBJETIVOS	- 4 -
1.3.1. OBJETIVO GENERAL:	- 4 -
1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	- 4 -
1.4. JUSTIFICACIÓN	- 5 -
CAPÍTULO II	- 6 -
2.1. POSICIONAMIENTO PERSONAL	- 6 -
2.2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	- 6 -
2.2.1 LÍQUIDO SEMINAL	- 6 -
FORMACIÓN DEL LÍQUIDO SEMINAL	- 6 -
COMPOSICIÓN DEL LÍQUIDO SEMINAL	- 8 -
VOLUMEN DEL SEMEN	- 8 -
2.2.2 PRUEBAS DETERMINANTES DE AGRESIÓN SEXUAL	- 9 -
PRUEBAS ORIENTATIVAS	- 9 -
PRUEBAS CONFIRMATORIAS O ESPECÍFICAS	- 9 -
2.2.3 LA ESCENA DEL CRIMEN	- 13 -
PROTECCIÓN DE LA ESCENA DEL CRIMEN	- 13 -
OBSERVACIÓN DE LA ESCENA DEL CRIMEN	- 13 -
FIJACIÓN DE LA ESCENA DEL CRIMEN	- 13 -
RECOLECCIÓN DE INDICIOS EN LA ESCENA DEL CRIMEN	- 14 -

PROTOCOLO DE RECOLECCIÓN DE INDICIOS BIOLÓGICOS EN DELITOS SEXUALES	- 14 -
SEMEN LÍQUIDO	- 15 -
EXUDADO DE LA CAVIDAD ANAL	- 16 -
EXUDADO DE LA CAVIDAD VAGINAL	- 16 -
EXUDADO DE LA REGIÓN DEL GLANDE	- 17 -
EXUDADO DE LA CAVIDAD ORAL	- 18 -
LAVADO DE PREPUCIO (GLANDE)	- 20 -
LEVANTAMIENTO DE SEMEN SOBRE EL CUERPO	- 20 -
MÁCULAS DE SEMEN EN TELAS COMO CORTINAS, ALFOMBRAS, VESTIMENTAS, ETC.	- 21 -
ROTULADO FORENSE	- 22 -
EMBALAJE LOS INDICIOS ENCONTRADOS EN LA ESCENA DEL CRIMEN	- 22 -
ETIQUETADO	- 23 -
2.2.4 PROTEÍNA SEMINAL P-30	- 24 -
PROTOCOLO PARA DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA P-30	- 25 -
PROTOCOLO PARA PREPARACIÓN DE LA MUESTRAS	- 26 -
PROTOCOLO PARA OBTENCIÓN DE MUESTRA EN UN SOPORTE SOLIDO	- 27 -
2.2.5 TINCIÓN DE ÁRBOL DE NAVIDAD	- 29 -
PREPARACIÓN DE REACTIVOS TINCIÓN ÁRBOL DE NAVIDAD COLORANTE ROJO RÁPIDO NUCLEAR (KERNECHTROT)	- 31 -
PROTOCOLO DE TINCIÓN ARBOL DE NAVIDAD	- 32 -
PRINCIPIO DE LA TINCIÓN ÁRBOL DE NAVIDAD	- 33 -
SISTEMA DE CAPTURA DE IMÁGENES MICROSCÓPICAS (INFINITY ANALYZE)	- 35 -
2.2.6 INFORME PERICIAL	- 35 -
CONTENIDO DEL INFORME PERICIAL	- 36 -
2.2.7 PENALIZACIÓN DE DELITOS SEXUALES	- 37 -
CLASIFICACIÓN DE LAS PENAS	- 37 -
CONDENAS ESTABLECIDAS EN DELITOS SEXUALES	- 37 -
LA AUDIENCIA DE JUZGAMIENTO	- 40 -
LA SENTENCIA	- 41 -
2.2.8 CIENCIAS FORENSES	- 41 -
CENTROS DE INVESTIGACIÓN DE CIENCIAS FORENSES	- 42 -
ACREDITACIÓN DE PERITOS	- 42 -
REQUISITOS PARA CALIFICAR COMO PERITOS	- 42 -
CADENA DE CUSTODIA	- 43 -
LUCES FORENSES	- 43 -
2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS	- 45 -
2.4. HIPÓTESIS	- 48 -
2.5. VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN	- 48 -
2.6. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	- 48 -
CAPÍTULO III	- 49 -
3. MARCO METODOLÓGICO	- 49 -
3.1. MÉTODO CIENTÍFICO	- 49 -
3.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN	- 49 -

3.3. TIPO DE ESTUDIO	- 49 -
3.4. POBLACIÓN Y MUESTRA	- 49 -
3.5. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS.	- 49 -
3.6. TÉCNICAS PARA EL PROCESO Y ANÁLISIS DE DATOS	- 50 -
<u>CAPÍTULO IV</u>	<u>- 61 -</u>
4.1 CONCLUSIONES	- 61 -
4.2 RECOMENDACIONES	- 61 -
4.3 ANEXOS	- 65 -

INTRODUCCIÓN

En el año de 1826 quedó registrado uno de los primeros esfuerzos para identificar la presencia de semen en una prenda, cuando Ollivier d'Angers y Barruel reportaron un caso en el que fueron consultados. El sospechoso afirmaba que unas manchas encontradas en su ropa fueron hechas por carne cruda de animal. Los expertos examinaron las áreas de la ropa junto con otros controles, y compararon su respectiva humectabilidad con agua, la naturaleza y color del extracto acuoso, y el comportamiento del extracto en una solución de alcohol absoluto. El extracto tenía un olor espermático, era alcalino, y sus restos al secarse era pegajosos. Por lo que concluyeron que la mancha no pudo haber sido causada por grasa animal, y que se trataba de una mancha de semen.

Orfila, uno de los médicos forenses más respetados de la época, reportó 1827 una serie de métodos de análisis químico para la identificación de fluido 10 seminal. Los métodos que desarrolló se basaban en la apariencia de las manchas cambios en el color y consistencia al ser sometidos al calor e inmersión en agua, el olor emitido al humedecer la mancha, y el comportamiento del extracto acuoso frente al tratamiento con diferentes agentes químicos. Las manchas de semen eran comparadas bajo estos criterios con descargas vaginales, con moco nasal y manchas de saliva.

Orfila no tenía demasiada confianza en los métodos por microscopía y opinaba que debían utilizarse siempre métodos químicos para la identificación de las manchas. Devergie, en 1839, encontró que se podían localizar espermatozoides en el canal uretral de la víctima, a través de un examen microscópico. Notó que había encontrado espermatozoides en manchas con 10 meses de antigüedad y que la confirmación a través de la detección con espermatozoides era más certera que los métodos químicos utilizados para la identificación de semen.

Sin embargo, no fue hasta 1839 cuando HL Bayard publicó procedimientos confiables para la detección espermatozoides por microscopía, y fue en 1897 cuando el Dr. W. F. Whitney desarrolló el método denominado tinción de Árbol de Navidad, método actualmente utilizado en INACIF.

La mayoría de los métodos químicos utilizados inicialmente fueron poco a poco abandonados por la mayoría de investigadores, y la generalidad empezó a basar sus estudios en la microscopía. Posteriormente surgieron nuevos métodos bioquímicos para la detección de semen, y se empezó a utilizar la enzima fosfatasa ácida, presente en gran concentración en el semen, en relación con otros fluidos corporales. Esta enzima fue reportada por primera vez

por Kutscher y Wohlbergs en 1935, sin embargo, Lundquist en 1945 le dio aplicación forense. También se utilizaron otras metodologías para detectar manchas de semen; en 1927, reportó que numerosos fluidos biológicos, incluidas las manchas de semen, florecían al ser sometidos a luz ultravioleta. Desde ese entonces muchos autores han publicado artículos al respecto y muchos laboratorios utilizan esa metodología de rutina.

Posteriormente, surgieron métodos inmunológicos para detección de semen en diferentes superficies, inicialmente se utilizaron reacciones de precipitación, algunas reacciones de formación de cristales, y finalmente los utilizados actualmente que se basan en la inmunocromatografía. Este último método es el utilizado para detección de la proteína seminal P-30, que fue identificada por Sensabaugh en 1978, y se bautizó en un principio en función de su peso molecular -30 000 daltons-.

En la actualidad se utilizan una combinación de métodos bioquímicos, inmunológicos y microscópicos para la detección e identificación de semen en cualquier superficie, el INACIF utiliza las pruebas de fosfatasa ácida, proteína seminal P-30 y tinción de árbol de Navidad.

"Siempre que dos objetos entran en contacto transfieren parte del material que incorporan al otro objeto". Edmund Locard.

CAPÍTULO I

TEMA: Determinación de proteína P-30 y rastreo de espermatozoides en personas víctimas de agresión sexual en el Centro de Investigación de Ciencias Forenses-Tungurahua en el período Enero-Agosto 2015.

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

Durante el año 2014 según datos que arroja la OMS indican que el 35% de las mujeres del mundo han sufrido violencia de pareja o violencia sexual por terceros en algún momento de su vida. Por término medio, el 30% de las mujeres que han tenido una relación de pareja refieren haber sufrido alguna forma de violencia física o sexual por parte de su pareja. Un 38% de los asesinatos de mujeres que se producen en el mundo son cometidos por su pareja.

En Ecuador algunas cifras escalofriantes difundidas por el INEC datan que 1 de cada 4 mujeres en el Ecuador ha vivido violencia sexual, 380.000 mujeres han sido violadas, cifra difundida en el Atlas de Desigualdades Socio Económicas del SENPLADES.

El embarazo en niñas entre 10 y 14 años aumentó en un 78% en los últimos diez años en el país. Todo embarazo en niñas menores de 14 años es producto de Violación.

En el país 3.684 niñas de entre 12 a 14 años fueron víctimas de violencia sexual en el 2010, lo cual representa 10 denuncias diarias, no sabemos cuántas quedaron embarazadas.

Se denuncian entre 10 y 14 violaciones diarias, ese es el rango desde hace cinco años.

Para la investigación de hechos delictivos el Gobierno implementó Centros de Investigación de Ciencias Forenses los mismos que se encuentran estratégicamente ubicados en diferentes zonas del Ecuador siendo así que CICF se encuentran en las ciudades de: Manta, Santo Domingo, Ambato, Machala, Loja, Nueva Loja, Esmeraldas y Cuenca. Estas ciudades fueron escogidas considerando la incidencia de los delitos, además de su ubicación estratégica.

Además dichos Centros de Investigación cuentan tanto con personal capacitado como el equipamiento apropiado y específico para la investigación forense permitiendo de esta forma esclarecer hechos delictivos y muertes sospechosas que a diario ocurren en nuestro país.

Según datos obtenidos del CICF-T en el área de Biología Forense a lo largo del período Enero a Agosto del 2015 se han contabilizado 94 casos de agresión sexual de los cuales se han

analizado un total de 333 evidencias las que arrojaron 102 resultados positivos para Proteína P-30 y en 64 de las evidencias se observó Espermatozoides en las placas.

1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA:

¿Cómo ayudaría la determinación de proteína P-30 y rastreo de espermatozoides a las personas víctimas de agresión sexual en el Centro de Investigación de Ciencias Forenses-Tungurahua en el período Enero-Agosto 2015?

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL:

- ✚ Determinar la proteína P-30 y rastreo de espermatozoides en personas víctimas de agresión sexual en el Centro de Investigación de Ciencias Forenses-Tungurahua en el período Enero-Agosto 2015.

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- ✚ Identificar las pruebas de Biología Forense utilizadas en casos de agresión sexual.
- ✚ Explicar el fundamento del método de determinación de proteína P-30 y rastreo de espermatozoides.
- ✚ Reconocer las técnicas apropiadas para el levantamiento de semen en la escena del crimen.

1.4. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad la agresión sexual es un tema de preocupación debido a que sus índices de prevalencia han aumentado notablemente, estas agresiones se pueden dar tanto a nivel intrafamiliar como extrafamiliar.

Las agresiones sexuales se están dando desde infantes hasta personas adultas mayores y en muchos de los casos provocando la muerte de los mismos, es así como actualmente se han reformulado las leyes con el fin de que estas sean más drásticas y así buscar castigar de manera más justa a los agresores.

La investigación de hechos delictivos antes de la implementación de los Centros Forenses estaba a cargo de varios departamentos públicos, los cuales no contaban con profesionales especializados en las ramas forenses, ni equipos específicos y tampoco técnicas forenses apropiadas para el estudio, por lo tanto estas investigaciones no eran completamente veraces.

Para lograr hacer justicia a estos actos se implementan los Centros de Investigación de Ciencias Forenses y dentro de los cuales un área de Laboratorio de Biología Forense en los que se llevan a cabo una serie de procedimientos entre ellos la determinación de Proteína P30 y el Rastreo de Espermatozoides que van a llegar a la determinación de la existencia o no de agresión sexual, tomando en cuenta que en muchos de los casos que se han analizado puede existir solamente la presencia de Proteína P30 mientras que en el Rastreo de Espermatozoides los mismos no han sido visualizados (esto puede deberse al número de hisopados obtenidos al momento de la toma de muestra, y a la cantidad de muestra depositada en la víctima) siendo la identificación de esta proteína determinante de agresión ya que solamente está presente en el líquido seminal humano, producto de una erección sin importar que haya habido o no eyaculación.

Estos análisis ayudan al Fiscal con la adquisición de pruebas contundentes que llevan a que el acusado de estos hechos pueda ser juzgado como culpable o inocente dependiendo de los resultados obtenidos y así ayudar a hacer justicia ante estos actos deplorables, que afectan el bienestar físico, psíquico y social de la víctima, tanto a corto como a largo plazo.

CAPÍTULO II

2.1. POSICIONAMIENTO PERSONAL

El presente trabajo de investigación se sustentara en la escuela epistemológica pragmática porque hay una relación directa de la teoría con la práctica, la teoría se sustentará en el marco teórico con una investigación bibliográfica y la práctica a través de los exámenes de laboratorio forense.

2.2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.2.1 LÍQUIDO SEMINAL

El semen es una mezcla de compuestos químicos y células, producido por las glándulas seminales y se le denomina “líquido seminal”. De las células, la principal es el espermatozoide. En la investigación de delitos sexuales, la búsqueda de semen es de gran importancia debido a que se puede utilizar un elemento de identificación humana. (ESTEVEZ, 2008)

Las características del semen varían no sólo entre individuos, sino también dentro del mismo individuo según la edad o entre distintos eyaculados. Algunas enfermedades, condiciones genéticas, el abuso de alcohol y drogas, la exposición a determinados agentes químicos y acciones quirúrgicas pueden reducir drásticamente el número de espermatozoides en el eyaculado – oligozoospermia- e incluso provocar su ausencia –azoospermia-.

FORMACIÓN DEL LÍQUIDO SEMINAL

El semen comienza su formación en los túbulos seminíferos de los testículos (donde se fabrican los espermatozoides), de ahí son retenidos en el epidídimo, donde maduran los espermatozoides y son conducidos por los conductos deferentes a las vesículas seminales donde el semen adquiere volumen y fructosa (que sirve de fuente de energía y alimento a los espermatozoides), finalmente, tras pasar por la próstata y añadir el líquido prostático, el semen atraviesa las glándulas de Cowper y Littré que también secretan un líquido lubricante al semen.

Los lugares donde se forma el semen son:

Túbulos seminíferos, de los testículos: aquí se forman los espermatozoides durante un proceso que se llama *espermatogénesis*, influido por una hormona llamada *testosterona* y por la hormona estimulante del folículo. Al principio los espermatozoides carecen de movilidad y avanzan gracias a los movimientos peristálticos de estos túbulos. Pero, según van avanzando, se van diferenciando y adquieren movilidad.

Epidídimo: aquí los espermatozoides son retenidos durante mucho tiempo (10 a 14 días), recorriendo su trayecto largo y tortuoso lentamente e impulsados por las contracciones peristálticas del músculo liso de la pared de este conducto. En el epidídimo los espermatozoides aumentan su capacidad fertilizante. Es el lugar principal de almacenamiento de los gametos masculinos.

Conductos deferentes: apenas contienen espermatozoides; su función, con su gruesa capa muscular, es la de transportar rápidamente el semen durante el coito, hacia la uretra.

Vesículas seminales: producen una densa secreción que contribuye de manera muy importante al volumen del eyaculado, que oscila entre el 46% y el 80%, siendo ésta la última parte del semen en salir en una eyaculación. Esta secreción es rica en fructosa, que es el azúcar principal del semen y proporciona los hidratos de carbono utilizados como fuente de energía de los espermatozoides móviles. También contiene pequeñas cantidades de un pigmento amarillo, flavinas en su mayor parte, que aportan al semen una fuerte fluorescencia a la luz ultravioleta, que tiene mucho interés en medicina legal para la detección de manchas de semen en una violación.

Próstata: Aporta la segunda parte del contenido del semen en una cantidad abundante que oscila entre el 13% y el 33% del volumen total del eyaculado. El líquido prostático es rico en enzimas (fosfatasa) y en ácido cítrico. La próstata produce el fosfato de espermina, un compuesto poliamínico presente en cantidad abundante en el semen humano. Cuando el semen se enfría y comienza a secarse, esta sustancia forma los cristales de Böttcher.

Uretra bulbar: contiene las glándulas de Cowper, actualmente conocidas como *glándulas bulbouretrales*, y *de Littré*, que también secretan un líquido lubricante al semen, poco abundante pero rico en mucoproteínas, siendo la primera parte del eyaculado. Facilitan la lubricación de la uretra que recorre el pene para el paso del semen a gran velocidad hacia el exterior, gracias a la contracción de los músculos bulbouretrales.

COMPOSICIÓN DEL LÍQUIDO SEMINAL

Menos de 10% del volumen del semen de una eyaculación corresponde a los espermatozoides, y más de 90% al líquido seminal. La densidad de espermatozoides en el semen varía de 50 a 150 millones por mililitro, por lo que cada eyaculación contiene entre 200 y 400 millones de ellos.

Entre los elementos que contiene el semen se encuentran los líquidos que aporta la vesícula seminal:

- Fructosa
- Aminoácidos
- Fosforo
- Potasio
- Hormonas

La próstata aporta de 15 a 30 por ciento del plasma seminal:

- Ácido cítrico
- L-carnitina
- Fosfatasa alcalina
- Calcio
- Sodio
- Zinc
- Potasio, enzimas para la separación de las proteínas y fibrolisina (una enzima que reduce la sangre y las fibras del tejido).

El último elemento que se agrega al semen es un fluido que secretan las glándulas uretrales y bulbouretrales, una proteína espesa, clara y lubricante conocida como moco. El semen contiene algunas otras células, desprendidas del epitelio de los conductos excretores y de la uretra.

(PELLO & RAMÍREZ, 2015)

VOLUMEN DEL SEMEN

El volumen de eyaculado normal es de 3 ml. Con un rango de 1 a 6 ml. La cantidad de espermatozoides es de 60 a 100 millones de espermatozoides por ml. El volumen total del eyaculado y el número de espermatozoides pueden variar por muchos factores:

- intervalo previo a la eyaculación
- actividad metabólica de la glándulas
- obstrucción ductual o eyaculación retrograda
- oligospermia.
- azoospermia.

El tiempo de resistencia del espermatozoide después del eyaculado varía de acuerdo al lugar físico de su ubicación:

- ✓ Vagina, parte interna y externa 120 horas
- ✓ Recto 65 horas Ano 46 horas
- ✓ Región oral De 6 a 9 horas

En indicios bien embalados y conservados a temperaturas de -20 grados centígrados, se han encontrado células espermáticas muchos años después. (ESTEVEZ, 2008)

2.2.2 PRUEBAS DETERMINANTES DE AGRESIÓN SEXUAL

Las pruebas utilizadas para determinar agresiones sexuales pueden ser orientativas y confirmatorias.

PRUEBAS ORIENTATIVAS

Observación macroscópica de las manchas de semen haciendo uso del tacto, si es que la muestra se encuentra acartonada o no y el olor.

Luz ultravioleta: permite hacer una primera aproximación a la detección de manchas de semen, mediante la exposición de la prenda, o soporte a analizar, podemos hacer visibles manchas invisibles al ojo humano. Se suelen utilizar unas gafas de color anaranjado (filtro), para poder ver mejor la posición de la mancha. Longitud de onda de 400 nm.

PRUEBAS CONFIRMATORIAS O ESPECÍFICAS

Estas pruebas confirmatorias pueden ser: electroforéticas, enzimáticas, inmunocromatográficas y microscópicas.

Las pruebas electroforéticas que detectan la presencia de proteína P- 30 son: la doble difusión ouchterlony, electroforesis cruzada, elevada inmunoelectroforesis e inmunodifusión radial.

Principio de ensayos electroforéticos

Proponen un método bidimensional sobre papel, combinación de electroforesis y cromatografía, lo que permite separar la espermina de los aminoácidos del semen y obtener una separación sumamente interesante de estos últimos, que puede considerarse de relevante valor para la identificación de dicho humor.

Dentro de las pruebas enzimáticas se encuentran: ELISA y fosfatasa ácida prostática

Principio de ELISA

Es una técnica de inmunoensayo en la cual un antígeno inmovilizado se detecta mediante un anticuerpo enlazado a una enzima capaz de generar un producto detectable, como cambio de color o algún otro tipo.

Una desventaja de los métodos mencionados es que son demasiado sensitivos o muy sofisticados y consumen mucho tiempo para su análisis en laboratorios forenses.

Principio de Fosfatasa Ácida Prostática (FAP)

Para determinar la presencia de esta enzima se utiliza un método colorimétrico, basado en la capacidad de la enzima de hidrolizar una variedad de esteres de fosfato, catalizando la salida del grupo fosfato del sustrato. Subsecuentemente se une a una sal de diazonio que resulta en la formación de un precipitado insoluble coloreado a expensas de la actividad de la FA. (JIMÉNEZ, 2012)

Los ensayos más utilizados en el ámbito forense son los inmunocromatográficos en especial para la determinación de proteína P-30. Dentro de estos análisis también se encuentra la determinación de semenogelina I y II.

Principio de ensayos inmunocromatográficos

Se denomina antígeno a cualquier agente extraño que al entrar en el organismo desencadena la producción de anticuerpos específicos contra él.

Los antígenos suelen ser moléculas grandes que se hallan formando parte de las estructuras superficiales de los microorganismos (cápsula o pared bacteriana, envoltura o cápside de los virus, etc) o de las toxinas que éstos segregan en el medio interno. Para cada antígeno que puede entrar en el organismo, existen linfocitos B capaces de

reconocerlo y de sintetizar proteínas que se unen específicamente al antígeno con el fin de desactivarlo. Estas proteínas se denominan anticuerpos.

Los anticuerpos son proteínas globulares que se designan también como inmunoglobulinas (Ig). Hay cinco clases que se diferencian por su composición y función biológica: Ig G, Ig M, Ig A, Ig D, Ig E.

En todas ellas existe la misma unidad estructural que está formada por cuatro cadenas de aminoácidos, dos son largas y pesadas ("cadenas H", del inglés heavy=pesado) y otras dos más cortas y ligeras ("cadenas L", del inglés light=liger). Estas cuatro cadenas se unen entre sí, adoptando en conjunto la forma de una Y; algunos de los enlaces son puentes disulfuro (-S-S-). Dentro de cada clase de inmunoglobulinas, todas las moléculas tienen una región constante, cuya secuencia de aminoácidos es igual para todas ellas, y dos regiones variables localizadas en los extremos de los brazos de la Y. Las regiones variables constituyen los centros de unión del anticuerpo con el antígeno; cada anticuerpo sólo actuará sobre los antígenos que puedan establecer enlaces con los aminoácidos de esas regiones. Por tanto, la unión antígeno-anticuerpo es específica.

Al unirse el antígeno con las moléculas del anticuerpo específico, se desencadena una **reacción antígeno-anticuerpo** que puede ser de distintos tipos:

Reacción de aglutinación: puede ocurrir cuando las moléculas de antígeno se hallan en la superficie de células extrañas al organismo. A cada célula se fijan varios anticuerpos, cada uno de los cuales establece, a su vez, enlace con otra célula. El resultado es un entramado de complejos antígeno anticuerpo que será fácilmente reconocido y destruido por los fagocitos. Esta reacción también se puede producir con los virus.

Este tipo de reacción es la que se produce en una persona cuando recibe sangre de un grupo distinto al suyo: los glóbulos rojos del donante son aglutinados por anticuerpos presentes en la sangre del receptor.

Reacción de neutralización: los anticuerpos al unirse a los antígenos bloquean su entrada en las células del organismo, impidiendo así su actuación.

Reacción de precipitación: los antígenos se hallan disueltos en la sangre, (toxinas bacterianas) y al unirse con el anticuerpo forman complejos insolubles que precipitan y que serán posteriormente fagocitados.

Opsonización: consiste en que la superficie de las bacterias u otros gérmenes patógenos es recubierta por anticuerpos; la región constante de cada anticuerpo se fija a receptores presentes en la membrana de los fagocitos, con lo que se facilita la captura y destrucción del germen invasor.

Sin embargo, una de las funciones principales de los anticuerpos es la activación del sistema de complemento, de la que hablaremos más adelante. (HENOCHOWICS, 2010)

La inmunocromatografía se basa en la migración de una muestra a través de una membrana de nitrocelulosa. La muestra es añadida en la zona del conjugado, el cual está formado por un anticuerpo específico contra uno de los epítomos del antígeno a detectar y un reactivo de detección. Si la muestra contiene el antígeno a problema, éste se unirá al conjugado formando un complejo inmune y migrará a través de la membrana de nitrocelulosa. Sino, migrarán el conjugado y la muestra sin unirse.

La zona de captura está formada por un segundo anticuerpo específico contra otro epítomo del antígeno. Al llegar la muestra a esta zona, los complejos formados por la unión del antígeno y conjugado quedarán retenidos y la línea se coloreará (muestras positivas). En el caso contrario las muestras son negativas.

La zona control está formada por un tercer anticuerpo que reconoce al reactivo de detección. Cuando el resto de muestra alcanza esta zona, el anticuerpo se unirá al conjugado libre que no ha quedado retenido en la zona de captura. Esta línea es un control de que el ensayo ha funcionado bien, porque se colorea siempre, con muestras positivas y negativas.

Técnicas de identificación microscópica de espermatozoides

En la búsqueda microscópica de espermatozoides en muestras de hisopados (secreción vaginal anal, bucal), prendas, etc; el método de elección es la tinción “árbol de navidad”, aunque existen otros métodos de tinción como:

Método hematoxilina-eosina: método conocido descrito para tinciones citológicas, su valor diagnóstico de espermatozoides se da dentro de las primeras 12 horas.

Cristal violeta: las muestras son extendidas y fijadas con alcohol éter 50:50 en láminas portaobjetos y posteriormente coloreadas con cristal violeta por minuto y medio y observadas con el lente 100x.

Método de Papanicolaou: método recomendado por la OMS para la tinción de espermatozoides, sin embargo Randall mostró que solo el 25% de los frotis de las mujeres voluntarias que habían tenido relaciones sexuales en las últimas 24 horas presentaban espermatozoides con esta tinción, lo que excluye el uso rutinario de esta técnica.

Método de fucsina alcalina: no ha demostrado eficacia en la detección de espermatozoides en las muestras vaginales. (CARREÑO, 2012)

2.2.3 LA ESCENA DEL CRIMEN

PROTECCIÓN DE LA ESCENA DEL CRIMEN

El aislamiento y protección de la escena del crimen es la diligencia policial que tiene por finalidad conservar sin alteraciones de ningún tipo el lugar donde se ha cometido un hecho delictivo hasta que se hagan presentes los encargados de practicar la investigación especializada y la inspección técnico criminalística.

Para evitar que personas como familiares, periodistas o transeúntes ingresen a la escena por curiosidad se deben colocar barreras, sogas o cintas de seguridad con avisos que indiquen: "ESCENA DEL CRIMEN - PROHIBIDO EL INGRESO". (PARRA, 2010)

OBSERVACIÓN DE LA ESCENA DEL CRIMEN

Es una habilidad que el investigador debe tener muy desarrollada y apoyada con los otros sentidos, proviene del latín "OBSERVATIO" que significa examinar atentamente.

Se debe estar alerta primero con la vista, luego el olfato, el oído y por último el tacto, el cual se utilizará para una ordenada colección y manejo de los indicios después de la fijación de estos.

FIJACIÓN DE LA ESCENA DEL CRIMEN

La fijación de lugar es imprescindible en todos los casos de investigación de hechos presuntamente delictivos, donde se considera necesario el registro de las características generales y particulares de un sitio, de un objeto o de las evidencias encontradas, para ilustrar a las autoridades, sin tener que ir nuevamente al escenario del delito.

La fijación del lugar de los hechos, sus evidencias y demás manifestaciones materiales se pueden efectuar aplicando las técnicas siguientes:

- Fijación Descriptiva.
- Fijación Fotográfica.
- Fijación Planimétrica.
- Moldeado.

RECOLECCIÓN DE INDICIOS EN LA ESCENA DEL CRIMEN

Se efectúa una vez que ha sido estudiado y fijado el lugar de los hechos, después de un minucioso examen y selección exacta de todos los indicios asociados, se levanta, se embala y etiquetan en forma técnica, para finalmente suministrarlos al laboratorio.

La colección de indicios se efectúa después de haber observado y fijado el lugar de los hechos y se lleva a cabo con tres operaciones fundamentales que son: levantamiento, embalaje y etiquetado. (FGE P. J., 2011)

PROTOCOLO DE RECOLECCIÓN DE INDICIOS BIOLÓGICOS EN DELITOS SEXUALES

En casos en los que se presume un delito sexual, el semen puede buscarse en la ropa de la presunta víctima y/ o cadáver; en las diferentes zonas anatómicas (vagina, ano, boca, glande, extremidades, etc.)

Presencia de Espermatozoides en las diferentes cavidades anatómicas en víctimas de agresión sexual.

CAVIDAD	ESPERMATOZOIDES INTACTOS	CABEZAS DE ESPERMATOZOIDES
VAGINA	24 Horas	Hasta 7 días
ANO/RECTO	5 Horas (rara vez)	2 a 3 días
BOCA		Hasta 24 horas

El cuadro detalla el tiempo en el que se puede encontrar espermatozoides intactos o únicamente las cabezas, en las diferentes cavidades anatómicas, en víctimas de agresión sexual. Cabe mencionar que la literatura científica muestra una gran variabilidad de datos sobre el tiempo de supervivencia de los espermatozoides y otros componentes seminales en

cavidades naturales, a menudo debido a que están basados en declaraciones de las víctimas, que por sus niveles de trauma o por alegaciones falsas no se ajustan a la realidad.

En casos de delitos sexuales es importante preguntar a la víctima si tuvo relaciones sexuales con anterioridad a la agresión (hasta 72 horas). En este caso, los restos de semen pueden pertenecer a la pareja sexual de la víctima, a más de los de su agresor.

SEMEN LÍQUIDO

Materiales y Reactivos:

- Hisopos estériles
- Tijeras estériles
- Tubos de tapa roja
- Tubos cónicos
- Etiquetas
- Bolsas de plástico
- Pipeta de Plástico
- Papel Filtro para muestras biológicas forenses
- Guantes
- Mascarillas
- Gafas de seguridad
- Overol

Procedimiento:

1. Si disponemos de un volumen de más de 0.5 ml, al aspirarlo con una pipeta de plástico estéril y depositarlo en un tubo cónico o un tubo de tapa roja.
Etiquetar y embalar el tubo en bolsa de papel. Mantener en condiciones de refrigeración hasta su llegada al laboratorio.
2. Si disponemos de un volumen menor de 0.5 ml, fijar el semen en papel filtro para muestras biológicas forenses (embalar y enviar)

Nota: En caso de no disponer de papel filtro para muestras biológicas forenses, sumergir un hisopo estéril, en el semen líquido (< 0.5 ml), dejar secar a temperatura ambiente. Colocar el hisopo dentro de un contenedor (embalar y enviar)

EXUDADO DE LA CAVIDAD ANAL

Materiales y Reactivos:

- Hisopos
- Tubos de plástico con tapón de rosca
- Etiquetas
- Guantes
- Overol
- Mascarilla
- Gafas de seguridad

Procedimiento:

1. Se tomaran dos hisopados por cada región: primero se tomara la región externa y luego se tomara la región interna
 - Región Externa: Tomar dos hisopados humedecidos con solución salina, agua estéril o agua inyectable sobre la periferia del ano.
 - Región Interna: Tomar dos hisopados a una profundidad del ano de 4 cm en promedio (recto).

En ambos casos dejar secar y regresar los hisopos con la muestra obtenida a su respectivo contenedor

2. Etiquetar cada hisopo indicando el orden en que fue tomada la muestra.
3. Embalar de manera individual
4. Enviar al laboratorio.

EXUDADO DE LA CAVIDAD VAGINAL

Materiales y Reactivos:

- Hisopos
- Solución salina o agua estéril
- Tubos de plástico con tapón de rosca
- Etiquetas
- Guantes

- Mascarilla
- Gafas de seguridad
- Overol

Procedimiento:

1. Se tomarán dos hisopados por cada región: primero la región vulvar y segundo a nivel de vagina.

Si luego de una inspección visual no se observa secreción a nivel vulvar humedecer los hisopos, con solución salina o agua estéril y tomar la muestra.

2. Permitir el secado y almacenar en su respectivo contenedor
3. Etiquetar cada hisopo indicando el orden en que fue tomada la muestra.
4. Enviar al laboratorio.

EXUDADO DE LA REGIÓN DEL GLANDE

Materiales y Reactivos:

- Hisopos
- Solución salina o agua estéril
- Tubos de plástico con tapón de rosca
- Etiquetas
- Guantes
- Overol
- Gafas de seguridad mascarilla.

Procedimiento:

1. Tomar la muestra mediante hisopo (dos), de la región del glande. Si luego de una inspección visual no se observa secreción a nivel del glande, humedecer los hisopos, con solución salina o agua estéril.

2. Permitir el secado y almacenar en su respectivo contenedor.
3. Etiquetar cada hisopo indicando el orden en que fue tomada la muestra y embalar.
4. Enviar al laboratorio.

EXUDADO DE LA CAVIDAD ORAL

Materiales y Reactivos:

- Hisopos o Citocepillos
- Tubos de plástico 15 ml con tapón de rosca o bolsas de plástico
- Tijeras
- Etiquetas
- Guantes
- Overol
- Mascarilla
- Gafas de seguridad.

Procedimiento:

1. Recuperar la mayor cantidad de muestra que se encuentre en la cavidad bucal principalmente entre los dientes, carrillo y por debajo de la lengua, rotando el hisopo para que se impregne en toda su superficie.
2. Repetir el paso 1 con otro hisopo, permitir el secado.
3. Introducir los hisopos en sus contenedores respectivos.
4. Embalar y etiquetar la muestra, mencionar el orden en el que fueron tomados los hisopos.
5. Enviar al laboratorio.

Otra opción para tomar este tipo de muestra es usar un citocepillo, el cual deberá secarse etiquetarse y embalsarse en su empaque original.

Nota: Pasadas las 24 horas no se podrá obtener ADN del agresor en este tipo de muestras.

LAVADO DE SEMEN DE LA CAVIDAD ANAL

Materiales y Reactivos:

- Jeringa desechable de 20ml
- Sonda estéril
- Frasco de plástico con tapa de rosca o tubo de plástico de 15 o 50ml
- Solución salina o estéril

- Etiquetas
- Guantes
- Overol
- Mascarilla
- Gafas de seguridad

Procedimiento:

1. Con un volumen de solución salina estéril (5- 10 ml), con la jeringa colocar la sonda.
2. Irrigar la cavidad anal de la víctima, introduciendo la sonda 4 o 5 cm de profundidad.
3. Aspirar nuevamente el líquido que contiene las células espermáticas de la cavidad.
4. Vaciar el contenido de la jeringa a un frasco tapa rosca o tubo cónico. Sellar herméticamente.
5. Embalar y etiquetar.
6. Enviar al laboratorio.

Consideraciones:

Cuando se trate de menores de edad, está a consideración del médico el levantamiento de la muestra por medio de la sonda.

LAVADO VAGINAL

Materiales y Reactivos:

- Jeringa de 20 ml desechable
- Sonda estéril
- Frasco de plástico con tapa de rosca o tubo de plástico de 15 o 50 ml
- Solución salina estéril
- Etiquetas
- Guantes
- Overol
- Mascarilla
- Gafas de seguridad

Procedimiento:

1. Aspirar un volumen de solución estéril con la jeringa (5-10ml) y colocar la sonda.
2. Irrigar la cavidad vaginal de la víctima.
3. Aspirar nuevamente el líquido el cual contendrá las células espermáticas de la cavidad
4. Vaciar el contenido de la jeringa a un frasco tapa rosca o tubo cónicos estériles. Sellar herméticamente.
5. Etiquetar
6. Enviar al laboratorio.

LAVADO DE PREPUCIO (GLANDE)

Materiales y Reactivos:

- Jeringa de 20 ml desechable
- Frasco de plástico con tapa de rosca o tubo de plástico de 15- 50 ml
- Solución salina estéril
- Etiquetas
- Guantes
- Overol
- Mascarilla
- Gafas de seguridad

Procedimiento:

1. Aspirar un volumen de solución estéril con la jeringa (5- 10 ml).
2. Irrigar la región del glande en el individuo.
3. Colectar el líquido el cual contendrá las células adheridas a la superficie, en un frasco estéril tapa roja.
4. Etiquetar
5. Enviar al laboratorio

LEVANTAMIENTO DE SEMEN SOBRE EL CUERPO

En caso de cadáver, tomar en cuenta el tiempo transcurrido después de la muerte ya que entre mayor sea este, aumenta la probabilidad de degradación de las células espermáticas.

Materiales y Reactivos:

- Etiquetas
- Guantes
- Cofia y mascarilla
- Hisopos
- Bolsas de papel
- Agua inyectable o solución salina

Procedimiento:

1. Humedecer dos hisopos estériles con agua inyectable o solución salina.
2. Aplicar cada hisopo sin presionar sobre la superficie de la mancha y deslizar de manera circular rotando el hisopo.
3. Permitir el secado de los hisopos.
4. Si los hisopos utilizados vienen acompañados de su contenedor especial, embalarlos en este.
5. Etiquetar y embalar.
6. Colocar dentro de una bolsa de papel o plástico y sellar.
7. Si el envío es inmediato al laboratorio, conservar a temperatura ambiente; sino, mantener en condiciones de refrigeración.

MÁCULAS DE SEMEN EN TELAS COMO CORTINAS, ALFOMBRAS, VESTIMENTAS, ETC.

Materiales y Reactivos:

- Hisopos
- Solución salina estéril o agua inyectable
- Bolsas de papel
- Tijeras
- Pinzas

Procedimiento:

- Si esta húmeda la mancha dejar secar, recortar alrededor de la misma, y embalarla en un sobre de papel.
- En el caso de las manchas secas sobre superficies lisas o cuero:
 1. Humedecer dos hisopos con solución salina estéril o agua inyectable.

2. Frotar la superficie en donde se encuentra la mancha para recuperar el material biológico.
3. Permitir el secado y regresarlo a su contenedor.
4. Etiquetar las muestras.
5. Enviar al laboratorio.

ROTULADO FORENSE

Previa la realización del análisis biológico de las evidencias emitidas al laboratorio de Biología Forense se debe rotular de manera adecuada las muestras tomadas de las evidencias, cada laboratorio forense establecerá una normativa apropiada para la identificación de sus evidencias.

Podemos tomar como modelo de rotulado forense tanto para viales, tubos eppendorf, placas, etc. los siguientes datos:

- Código asignado por el analista forense.
- Ciudad y provincia a la que pertenecen las evidencias.
- Nombre de la prueba a realizarse y número de muestra tomada de la evidencia.
- Descripción del lugar exacto de donde fue tomada la muestra y el tamaño del corte en caso de ser prendas.

(MORENO, y otros, 2012)

EMBALAJE LOS INDICIOS ENCONTRADOS EN LA ESCENA DEL CRIMEN

Es la maniobra que se hace para guardar, inmovilizar y proteger un indicio dentro de algún recipiente protector.

La técnica del embalaje está sujeta a la naturaleza de la evidencia, según el material de la muestra o indicio, el embalaje se realizará de la siguiente manera:

Embalajes interiores, formados por:

- Embalaje primario (recipientes primarios)
- Embalaje secundario (bolsa de plástico, bolsa de papel, cartón, etc).

Si se coloca varios recipientes primarios en un mismo embalaje secundario, los primeros deberán envolverse individualmente para evitar que haya contacto entre ellos.

- Embalaje exterior, dónde se debe incluir una relación detallada de su contenido.

El embalaje está constituido por el empaque, el sellado y el etiquetado, por lo tanto estos tres elementos forman parte de un buen embalaje, y constituye una alteración si falla uno de ellos. (FGE P. J., 2011)

ETIQUETADO

Todas las muestras deben ser rotuladas con bolígrafo de tinta indeleble, letra imprenta clara y legible. Las muestras no rotuladas como se indica, no serán aceptadas.

Cada una de las muestras e indicios deben identificarse con los datos de la siguiente etiqueta adhesiva.

Anverso de la Etiqueta

Tipo de muestra o indicio:	
Contenido:	
Fecha de recolección: (día/mes/año)	Hora que se toma la muestra: (00h hasta 24h)
Lugar donde se recogió la muestra:	
Noticia Técnica N°:	Informe N°:
Apellidos y nombres de la persona que toma la muestra:	Firma y N° de CC:
N° de celular de la persona que toma la muestra:	
Apellidos y nombres de la persona que chequea la muestra:	Firma y N° de CC:
N° de celular de la persona que chequea la muestra:	
Observaciones: (condiciones especiales de manejo, transporte o almacenamiento para evitar para evitar su deterioro o alteración)	

Reverso de la Etiqueta

Instrucciones de Uso
Tipo de muestra o indicio: Debe indicarse si el indicio es biológico, si se trata de un bala, arma, vaina o cualquier elemento relacionado, huella dactilar, algún escrito, video, grabación, etc.
Contenido: Debe describirse brevemente el indicio.
Fecha de recolección: Según el formato día/mes/año.
Hora que se toma la muestra: Según el formato 00h hasta 24h.
N° de Noticia Técnica e Informe: Según el SIIPNE
Observaciones: Especificar las condiciones especiales de manejo, transporte o almacenamiento del indicio para evitar su deterioro o alteración, en especial si el indicio fue tomado bajo condiciones no favorables.

(MORENO, y otros, 2012)

2.2.4 PROTEÍNA SEMINAL P-30

Historia

En 1971 Hara y col. Describieron un antígeno que hallaron en el plasma seminal humano, al que denominaron "**Gamma-seminoproteína**".

Li y Beling aislaron posteriormente dos antígenos del plasma seminal. Uno de estos, denominado "**Antígeno del semen E-1**" era la misma proteína descrita anteriormente por Hara,

Sensabaugh aisló y caracterizó detalladamente la proteína específica del semen, en el plasma seminal humano y la denominó "**P-30**".

En 1979 Wang y col. Identificaron y aislaron un antígeno específico del tejido prostático.

Se propuso el término de: "**antígeno prostático específico**" para describir a esta proteína. Se determinó que su peso molecular era de 33 a 34 KD

El antígeno prostático específico (frecuentemente abreviado por sus siglas en inglés, PSA) es una sustancia proteica sintetizada por células de la próstata. Su función es la disolución del coágulo seminal. Es una glicoproteína cuya síntesis es exclusiva de la próstata. Una pequeñísima parte de este PSA pasa a la circulación sanguínea de hombres enfermos.

Inicialmente se creía que se trataba de una proteína específica del semen, sin embargo, se ha determinado que se puede encontrar en múltiples tejidos, incluyendo las mamas, tumores, glándulas periuretrales, leche materna, líquido amniótico, orina femenina y el endometrio. No se ha detectado la presencia de P-30 en fluidos vaginales. Tampoco se ha identificado su presencia en el semen de otras especies animales domésticas (carnero, toro, cerdo, gato), aunque sí se encuentra en primates tales como el orangután y macaco en rangos de concentración semejantes al humano.

El fluido seminal es un buen marcador forense, ya que es estable por mucho tiempo, específico porque solo está presente en varones y su detección en concentraciones mínimas. La detección de PSA mediante inmunoensayo y el respaldo de la prueba de fosfatasa ácida pueden ser empleadas como pruebas confirmatorias en la detección de semen. El PSA como proteína se comporta de manera estable en las máculas de semen como en las prendas e hisopados vaginales, siendo además posible su detección inmediata en cantidades mínimas.

Así mismo la especificidad de especie del PSA como tal la hace muy específica excluyendo falsos positivos en relación con la reacción de la fosfatasa ácida. (QUISPE, GUERRA, & SOLÍZ, 2009)

Entre los ensayos inmunocromatográficos para la detección de P-30 que se comercializan, se encuentran pruebas como PSA-check-1 (VEDLAB, Alencon); Seratec® PSA Semiquant (Seratec Diagnostica, Göttingen); y One Step ABACard PSA® (Abacus Diagnostics, California). (JIMÉNEZ, 2012)

El fabricante de RSID-semen afirma que puede ser detectado 1 micro litro de fluido seminal humano con su test, mientras que el fabricante del test ABACard P-30 afirma que se pueden detectar hasta 4 ng/ml de PSA con su dispositivo de prueba.

En un ensayo practicado por Ying A., Yang H. Yu, E.F. Diamandis y D.J.A. Sutherland en 1994, ellos reportan que la sensibilidad de la prueba para ABACard p30 es un poco mejor en este estudio que el anunciado por el fabricante y es comparable a la sensibilidad de otros dos kits comerciales, el PSA Seratec y PSAcheck-Semiquant. Con ambas pruebas capaces de detectar semen humano y fluido seminal, se considera que ofrecen pruebas muy sensibles para la detección de semen.

Muestras de orina de hombres y mujeres fueron probadas con ambos dispositivos. Todas las muestras de orina masculina y ninguna de las femeninas fueron positivas para la PSA. La detección de PSA en orina de varones se esperaba, porque pequeñas cantidades de líquido de la próstata pueden estar presentes en la orina masculina. (ASECRIMF, 2011)

El kit ABACard PSA, utiliza anticuerpos monoclonales antiP-30 humanos que se unen al antígeno prostático específico (P-30) formando un complejo antígeno-anticuerpo. El límite inferior de detección es de 4 ng/mL, por lo que una muestra que contenga una cantidad igual o superior, es evidenciada por la prueba, determinando un resultado positivo. (JIMÉNEZ, 2012)

PROTOCOLO PARA DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA P-30

La proteína “p30” es un marcador aceptado para la detección de líquido seminal en casos donde se sospecha abuso sexual, es detectable también en individuos vasectomizados o azoospermicos.

PRINCIPIO DEL ENSAYO

Para esta prueba el procedimiento es: 200 microlitros de una muestra se agregan al pozo "S" y se deja filtrar. Si el P-30 está presente en el espécimen este reaccionará con el anticuerpo monoclonal antiP-30 humano móvil y un complejo antígeno-anticuerpo se forma. Este complejo antígeno-anticuerpo móvil emigra a través del dispositivo absorbente hacia el área de prueba "T". En el área de prueba "T" un anticuerpo monoclonal antiP-30 humano es inmovilizado. Este anticuerpo inmovilizado captura el complejo antes mencionado para formar un emparedado "anticuerpo-antígeno-anticuerpo". Las partículas coloreadas de rosa se acoplan en una zona angosta de la membrana. Cuando la concentración de P-30 en la muestra exceda de 4 ng / ml las partículas color rosa formarán una banda en el área de prueba "T", indicando así un resultado positivo de la prueba. Como un control positivo interno, la "mancha" del anticuerpo P-30 acoplada no podrá ligarse al anticuerpo en el área de prueba "T", porque ya está capturada por el anticuerpo inmovilizador anti inmunoglobulina presente en el área de control "c" formando un complejo. Las partículas capturadas de color rosa formarán una banda en el área de control "C" indicando que la prueba funciona correctamente y que se ha seguido el procedimiento adecuado.

Así la presencia de dos líneas de color, una en el área de prueba "T" y otra en el área de control "C" indicarán resultado positivo, mientras que una sola línea en el área "C" indicará un resultado negativo. (MCA ABACUS DIAGNOSTICS, 2008)

➤ Muestra Requerida

Las muestras y evidencias en las que se determina la presencia de líquido seminal humano son: hisopados genitales, para genitales y extra genitales, así también, manchas sospechosas en prendas de vestir, preservativos y otros soportes.

PROTOCOLO PARA PREPARACIÓN DE LA MUESTRAS

Las manchas, los hisopos y las muestras congeladas deben ser descongelados completamente y llevados a 2-8 °C.

1. En un microtubo colocar 750ul de buffer de extracción La extracción de muestras de hisopos (corte longitudinal) o manchas(corte aprox. 3mm ó 5mm)
2. Agitar en un dispositivo Vortex por 5 segundos.

3. Colocar en refrigeración por dos horas (2-8°C). Este procedimiento recupera aproximadamente el 99% de p30 extraída del hisopo.
4. Dejar a temperatura ambiente de 3 a 5 minutos.
5. Centrifugue la muestra 3 minutos a 3.600 rpm después del paso de extracción.
6. Remover el dispositivo y el gotero del paquete sellado.
7. Etiquetar el dispositivo con el número de caso.
8. Adicionar 300ul (6-7gotas con el gotero) de la muestra al pocillo "S" del dispositivo.
9. Leer los resultados a los 10 minutos.
10. Esta alícuota podría ser almacenada entre 2-8 °C sino se usa inmediatamente.

PROTOCOLO PARA OBTENCIÓN DE MUESTRA EN UN SOPORTE SOLIDO

Existen muchos casos en los que los fluidos biológicos como el semen se deben retirar de soportes sólidos (prendas de vestir, sábanas, toallas, papel y otros) para posterior estudio de la proteína P-30. Para estos casos, debemos recurrir a un procedimiento llamado levantamiento de evidencias en donde recuperamos los fluidos biológicos para estudio, para lo cual utilizamos el siguiente procedimiento:

1. Observar el soporte solido en la luz forense.
2. Identificar la zona en donde existe fluorescencia para determinar la ubicación del supuesto fluido biológico.
3. La extracción de muestras en superficies solidas se tomara con hisopo (corte longitudinal) y en los demás casos se realizara un corte aprox. 3mm ó 5mm.
4. Agregar en un microtubo con 750ul de buffer de extracción.
5. Agitar en un dispositivo Vortex por 5 segundos.
6. Colocar en refrigeración por dos horas (2-8°C) Este procedimiento recupera aproximadamente el 99% de p30 extraída del hisopo. }
7. Dejar a temperatura ambiente de 3 a 5 minutos.
8. Centrifugue la muestra 3 minutos a 3.600 rpm después del paso de extracción.
9. Remover el dispositivo y el gotero del paquete sellado.
10. Etiquetar el dispositivo con el número de caso.
11. Adicionar 300ul (6-7gotas con el gotero) de la muestra al pocillo "S" del dispositivo.
12. Leer los resultados a los 10 minutos.
13. Esta alícuota podría ser almacenada entre 2-8 ° C sino se usa inmediatamente.

Los resultados positivos se pueden ver después de un minuto dependiendo de la concentración de p30.

Para resultados negativos se deben esperar 10 minutos.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Positivo:

Si existen dos líneas rosadas, una en el área "T" de la prueba y en el área control "C", el resultado es positivo e indica que los niveles de p30 están sobre 4 ng/ml

Negativo:

Si existe solo una línea rosada en el área de control "C" el test es negativo.

Esto puede indicar que:

- a) P30 no está presente sobre 4 ng/ml.
- b) Presencia de efecto prozona. Que podría dar un resultado falso negativo debido a la presencia de altas concentraciones de p30 en la muestra, como por ejemplo líquido seminal no diluido. En este caso la muestra de ser ensayada nuevamente usando una dilución 10 a 10.000.

Inválido:

Si no existe línea rosada visible en el área de control "C" el test no es concluyente. Repetir el test y examinar el procedimiento cuidadosamente.

CONTROL DE CALIDAD

La línea control en el área de control "C" puede ser considerada un control interno del procedimiento. Otra línea rosada aparecerá siempre si el test se ha desarrollado correctamente.

Si la línea de control "C" no aparece el test es inválido y un nuevo test debe ser desarrollado siguiendo los correctos procedimientos. Se podría realizar un test de control de calidad usando estándares de controles positivo y negativo.

LIMITACIONES

- 1) Los casetes inmucromatográficos para determinación de proteína P30 es solo para detección en vitro de semen. No para uso diagnóstico.
- 2) El test debe ser desarrollado en estricto acuerdo con estas instrucciones para tener resultados seguros y reproducibles.
- 3) Si se sospecha un elevado nivel de p30 y el resultado obtenido es negativo el test debe ser repetido con una muestra fresca.
- 4) Resultados positivos se podrían obtener con muestras de orina masculina las cuales han reportado un valor de p30 260ng/ml. El antígeno específico de la vesícula seminal debe no estar presente en la prueba con orina.
- 5) Una muestra apropiada debe ser usada puesto que p30 es detectable en el tracto vaginal solo en un máximo de 2 días

ESPECIFICIDAD

- A. La hemoglobina (10gr/l) bilirrubina (100mg/l) y muestras lipémicas (5 g/l) no interfieren con los resultados de la prueba.
- B. Concentraciones altas de proteína tales como fosfatasa ácida prostática (1000ng/ml) albumina (20g/l) HCG (900UI/ml) transferrina (5g/l) y prolactina (1mg/l) no interfieren con los resultados de la prueba.
- C. Se pueden obtener resultados positivos en hombres vasectomizados y en muestras de orina pos eyaculación en adultos. (FGE, MANUAL DE PROCEDIMIENTOS DE LABORATORIO DE BIOLOGÍA FORENSE, 2012)

2.2.5 TINCIÓN DE ÁRBOL DE NAVIDAD

La visualización microscópica de espermatozoides sigue siendo considerada la prueba definitiva para la demostración de esperma en los laboratorios de biología forense.

La técnica Kernechtrol-Picroíndigocarmín KPIC o Árbol de Navidad se utiliza de forma corriente como tinción identificativa de células espermáticas. Este método se caracteriza por discernir principalmente espermatozoides completos o cabezas de espermatozoide de células no espermáticas, bien células epiteliales o levaduras, que regularmente están presentes en las muestras procedentes de una agresión sexual. La composición de la técnica es de sulfato de aluminio, nuclear Fast Red, ácido pícrico e índigo carmín.

Así, de un pellet o sedimento centrifugado se selecciona un pequeño volumen para tinción microscópica y se prepara un frotis que una vez fijado al calor se tiñe primero con nuclear Fast Red y posteriormente con picroíndigocarmín. En la visualización al microscopio óptico se destaca la parte posterior de las cabezas de espermatozoide de rojo fucsia refringente, siendo la zona anterior teñida de forma más suave, resaltando el acrosoma con su característica transparencia, mientras que la cola del espermatozoide y el cuello resultarán en color verde.

Las células epiteliales, si las hubiere en la muestra, por ejemplo por descamación de tejido anogenital, toman una coloración verde en citoplasma y granate en el núcleo. Debido a la fragilidad de la unión entre cabeza y cola, y a la rapidez de su ruptura por deshidratación, lo más frecuente es la visualización de cabezas de espermatozoide.

Recientemente, se ha descrito otro método de tinción mediante fluorescencia específico de espermatozoides (HY-LITER, Independent Forensics) donde las cabezas y porciones de la cola se visualizarán usando filtros compatibles con fluoresceína o Alexa 488 por inmunodiagnosic con marcaje diseñado mediante anticuerpos monoclonales. (MARTÍNEZ & VALLEJO, 2012)

Los espermatozoides tienen tres diferentes regiones: cabeza; cuello y cola. La cabeza es aplanada y elíptica contiene el núcleo con cromosomas empacados densamente. La punta de la cabeza se encuentra recubierta por una membrana que contiene enzimas esenciales para la fertilización, tales como hialuronidasas y acrosina que rompen la membrana externa del óvulo. Un cuello corto une la parte media con la cabeza, este cuello contiene los dos centriolos del espermatozoide original. Las mitocondrias en la parte media se encuentran arregladas de forma espiral alrededor de microtúbulos, la actividad de estas mitocondrias es proveer el adenosín-trifosfato (ATP) necesario para el movimiento de la cola. Constituyen la única célula flagelar del ser humano, que le permite un movimiento complejo en forma de sacacorchos. Estas células también se caracterizan porque en su estado maduro carecen de retículo endoplásmico, aparato de Golgi, lisosomas, peroxisomas y otras organelas intracelulares. Por tal razón estas células tienen menor masa y tamaño, además no contienen glicógeno ni otras reservas de energía, por lo que absorbe nutrientes de los fluidos circundantes, principalmente fructosa.

Tradicionalmente la observación al microscopio de espermatozoides, era considerada la prueba de confirmación de presencia de semen en una muestra analizada. En la actualidad un análisis de proteína seminal P-30 con resultado positivo, es considerado confirmatorio de presencia de semen aún en la ausencia de espermatozoides. Existe diversidad de criterios respecto a la supervivencia de espermatozoides, sin embargo, son considerados el

componente seminal que puede detectarse a más largo plazo. Se puede aceptar, en personas vivas y de forma general un período máximo de 7 días para detectar cabezas de espermatozoides en vagina, dos o tres días en ano o recto y 24 horas en boca.

Frecuentemente se observan espermatozoides intactos (con cola), en vagina dentro de las 24 horas siguientes al acto sexual, pero rara vez se encuentran en boca, ano o recto tras las 5 horas de los hechos. Estos datos se ven afectados por una diversidad de factores imposibles de controlar, lo que ocasiona variabilidad en los datos mencionados. En prendas de vestir y otras superficies, absorbentes almacenadas en ambientes secos, los espermatozoides pueden permanecer por décadas

Existen diferentes tinciones utilizadas para teñir espermatozoides en el área forense, la tinción de árbol de navidad es una de las más difundidas y aceptadas por la comunidad científica forense. Esta tinción utiliza los colorantes rojo rápido nuclear y picro índigo carmín. La cabeza se tiñe de color rosado fuerte a rojo y el acrosoma se tiñe rosado pálido. La parte media se tiñe de una coloración que va de rojo fuerte a lila debido al colorante rojo rápido nuclear. La cola se teñirá de una coloración verde debido a la acción del picro índigo carmín. También se tiñen las células epiteliales presentes, observándose como estructuras romboides con núcleos de color rosado/rojo. (JIMÉNEZ, 2012)

PREPARACIÓN DE REACTIVOS TINCIÓN ÁRBOL DE NAVIDAD COLORANTE ROJO RÁPIDO NUCLEAR (KERNECHTROT)

COLORANTE ROJO RAPIDO NUCLEAR (KERNECHTROT) (SOL .1)	
REACTIVO	CANTIDAD
ROJO RAPIDO NUCLEAR	100 mg
SULFATO DE ALUMINIO	5.0 gr
AGUA DESTILADA	100 ml
COLORANTE INDIGO CARMIN (SOL. 2)	
ACIDO PICRICO (comercial)	300 ml
INDIGO CARMIN	1.0 gr

COLORANTE ROJO RAPIDO NUCLEAR

1. Calentar a ebullición 100 ml de Agua destilada y disolver el sulfato de aluminio.
2. Adicionar el colorante rojo rápido nuclear,
3. mezclar con agitador mecánico o varilla de vidrio hasta disolución completa.
4. Enfriar y filtrar en papel filtro

5. Almacenar en frasco gotero ámbar. La solución Kernechtrot es estable a temperatura ambiente hasta 6 meses, pero puede ser necesario filtrarlo de nuevo después de estar sin movimiento.

COLORANTE INDIGO CARMIN

1. Disolver 1 gr de colorante índigo en 300 ml de ácido pícrico comercial
2. Mezclar perfectamente con agitador mecánico o varilla de vidrio
3. Filtrar
4. Guardar en frasco ámbar.

La solución picroindigocarmín es estable a temperatura ambiente hasta 6 meses, pero puede ser necesario filtrarlo de nuevo después de estar sin movimiento.

PROTOCOLO DE TINCIÓN ARBOL DE NAVIDAD

El semen está constituido por espermatozoides y líquido seminal. Entre el 15 – 20 % de volumen proviene de la próstata, 60 – 70 % de las vesículas seminales y solo el 10 % proviene del epidídimo. El semen es un líquido viscoso de color blanco grisáceo y opalescente, su pH varía entre 7.3 y 7.8 sus amortiguadores fosfatos y bicarbonato de sodio contribuyen a proteger a los espermatozoides del pH vaginal. Como elemento celular característico del semen se encuentran los espermatozoides, sin embargo el cuadro celular es mucho más complejo: presenta células gigantes, células epiteliales, leucocitos, células prostáticas, cilindros testiculares y bacterias, contiene de 70 a 150 millones de espermatozoides por ml.

El espermatozoide humano maduro mide 60um de largo y es una célula con movimiento activo, está formado por una cabeza de forma oval vista de frente y forma de pera vista de perfil con el extremo angosto orientado hacia adelante, una pieza intermedia que contiene mitocondrias y una cola formada por nueve filamentos que rodean a otros dos centrales. La mayor parte de la cabeza está ocupada por el núcleo, cuya cromatina está condensada; 2/3 del núcleo están cubiertos por el acrosoma. Microscópicamente se compone de cuatro secciones: el cuello, la pieza intermedia, la pieza principal y la pieza terminal con diferencias estructurales. La vida aproximada del espermatozoide en canal endocervical es de 114 h, en fondo de saco vaginal es de 120 h, rectal 65 h, anal 46 h y en la boca 6 h, en cadáveres no existen referencias bibliográficas en cuanto al tiempo posible de encontrarlos vivos.

El tiempo de permanencia de los espermatozoides en la cavidad vaginal varía dependiendo de presencia de menstruación, infecciones vaginales, el pH vaginal, lavado vaginal, el ejercicio físico y la cantidad de espermatozoides eyaculados. La defecación, afecta el tiempo de permanencia de los espermatozoides en la cavidad anal. La mezcla de estas variables hace que en general, los espermatozoides puedan detectarse en vagina hasta tres días después del coito. Sin embargo en la literatura relacionada con la investigación forense, se han observado algunos casos en los cuales los espermatozoides han sido detectados hasta seis días después del coito, en cadáveres no existen referencias bibliográficas en cuanto al tiempo posible de encontrarlos vivos, pero se debe considerar su afectación por la putrefacción. (FGE, MANUAL DE PROCEDIMIENTOS DEL LABORATORIO DE BIOLOGÍA FORENSE, 2012)

PRINCIPIO DE LA TINCIÓN ÁRBOL DE NAVIDAD

En la tinción de células espermáticas ocurren una combinación de fenómenos físicos y químicos: la absorción, capilaridad y ósmosis participan en cierto grado. El fundamento de la prueba se basa en la afinidad de los colorantes básicos por los elementos celulares ácidos y de los colorantes ácidos por elementos celulares básicos. (ASECRIMF, 2011)

MUESTRA REQUERIDA

Las muestras y evidencias en las que se determina la presencia de espermatozoides son: frotis de hisopados genitales, para genitales y extra genitales.

PROCEDIMIENTO

- 1) Visualizar en la placa donde se encuentra el frotis y delimitar el frotis con lápiz demográfico.
- 2) Fijar el frotis a calor seco o exponerlo a la llama directamente.
- 3) Colocar unas cuantas gotas (que cubra el frotis) de la solución Kernechtrot (rojo nuclear) y dejar actuar por 20 minutos (Reactivo 1).
- 4) Lavar con agua destilada.
- 5) Colocar unas cuantas gotas (que cubra el frotis) de la solución picroíndigocarmine y dejar actuar de 10 a 15 segundos (Reactivo 2).
- 6) Aclarar el frotis con etanol al 95 %.
- 7) Dejar secar y montar la placa.
- 8) Observar en lente 40 X.

OBSERVACIÓN

En el espermatozoide, el material nuclear se tiñe de color rojo o rojo/púrpura, el cuerpo de los espermatozoides se observa de forma ovalada y teñido de rojo con un fondo rosado ligero, el acrosoma del espermatozoide se tiñe de color rojo ligero, la región media y la cola de los espermatozoides se tiñen de color verde o azul verdoso. Es necesario contar con un control positivo de espermatozoides y registrar el resultado mediante una fotografía para guardar como fotografía digital e imprimirla para adjuntar al expediente del caso.

RESULTADOS

Se reporta como **“PRESENCIA O AUSENCIA DE ESPERMATOZOIDES”**

Cuando el material celular es insuficiente se puede reportar como **“MATERIAL INSUFICIENTE PARA EMITIR UN RESULTADO”**

LIMITACIONES

Por la naturaleza de la muestra y el tratamiento que se da en la preparación de los extractos es posible observar morfologías atípicas tales como la ausencia de cola.

PROTOCOLO PARA OBTENCION DE MUESTRA EN SOPORTE SÓLIDO

Existen muchos casos en los que los fluidos biológicos como el semen se deben retirar de soportes sólidos como son la ropa interior de la víctima o del agresor para posterior estudio de espermatozoides. Para estos casos, debemos recurrir a un procedimiento llamado levantamiento de evidencias en donde recuperamos los fluidos biológicos para estudio, para lo cual utilizamos el siguiente procedimiento:

- 1) Observar el soporte solido en la luz forense.
- 2) Identificar la zona en donde existe fluorescencia para determinar la ubicación del supuesto fluido biológico.
- 3) La extracción de muestras en superficies solidas se tomara con hisopo (corte longitudinal) y en los demás casos se realizara un corte aprox. 3mm ó 5mm.
- 4) Agregar en un microtubo con 200ul de buffer de extracción
- 5) Agitar con un dispositivo Vortex por 30 minutos a mínima rpm.

- 6) Centrifugue la muestra 8 minutos a 3.600 rpm.
- 7) Eliminar el sobrenadante con una pipeta.
- 8) Transferir el sedimento a una placa porta objetos.
- 9) Fijar la placa.
- 10) Realizar la tinción “Árbol de Navidad” descrita anteriormente.

(FGE, MANUAL DE PROCEDIMIENTOS DEL LABORATORIO DE BIOLOGÍA FORENSE, 2012)

SISTEMA DE CAPTURA DE IMÁGENES MICROSCÓPICAS (INFINITY ANALYZE)

La Microscopía es una herramienta fundamental, pero dentro de este término encontramos una gran diversidad instrumental que, basándose en las propiedades físicas y químicas de la óptica, la iluminación y las propias muestras, permite la observación de las evidencias a diferentes niveles de complejidad. (MURCIA, 2009)

Los microscopios Olympus utilizados en los Centros de Investigación de Ciencias Forenses satisfacen las exigencias más altas y diversas estableciendo un nuevo estándar en cuanto a desempeño óptico y compatibilidad con sistemas accesorios. Estos microscopios son sinónimo de gran calidad e imágenes de alta resolución. (OLYMPUS, 2016)

El método de captura óptica utilizado en estos microscopios se llamada Infinity Analyze este es un Software que contiene aplicaciones que le permiten ajustar los parámetros de captura como fuente de luz, la exposición, los ajustes de gamma, o la resolución. (INFINITY, 2016)

2.2.6 INFORME PERICIAL

Es una estructura formal de presentación de resultados periciales, adecuada para su comprensión e interpretación por parte de lectores que no son especialistas en la materia peritada. Normalmente, pero no de manera excluyente, se trata de operadores del derecho, en particular funcionarios judiciales.

El informe pericial no significa dictamen de valoración pues tiene por finalidad reconocer y describir de manera prolija y detallada las huellas y señales que hubiera dejado la infracción. El perito tiene la obligación de hacer ante el juez un examen técnico y exhaustivo del lugar y/u objeto a fin de que no se pierda ninguna de la piezas de convicción por ocultas que estén por difícil que sean de ubicar por lo que se vale de procedimientos técnicos, su labor constituye en

facilitar que se incorpore al juicio, todas las huellas señales rastros de la infracción. (MORENO, y otros, 2012)

CONTENIDO DEL INFORME PERICIAL

Los requisitos mínimos obligatorios de todo informe pericial son los siguientes:

1. **Parte de antecedentes:** en donde se debe delimitar el objeto del peritaje, esto es, se tiene que especificar claramente el tema sobre el que informara en base a lo ordenado por la jueza o juez, la o el fiscal y / o lo solicitado por partes procesales.
2. **Parte de consideraciones técnicas o metodología a aplicarse:** en donde se debe explicar claramente, como aplican sus conocimientos especializados de una profesión, arte u oficio, al caso o encargo materia de la pericia.
3. **Parte de conclusiones:** luego de las consideraciones técnicas, se procederá a emitir la opinión técnica, o conclusión de la aplicación de los conocimientos especializados sobre el caso concreto analizado. La conclusión será clara y directa en relación a la pericia realizada. Se prohíbe todo tipo de juicios ambiguos, así como cualquier tipo de juicio de valor sobre la actuación de las partes en el informe técnico.
4. **Parte de inclusión de documentos de respaldo, anexos, o explicación de criterios técnicos:** deberá sustentar sus conclusiones ya sea con documentos y objetos de respaldo, grabaciones de audio y video, etc) o con la explicación clara de cuál es su sustento técnico o científico para obtener un resultado o conclusión específica. Se debe exponer claramente las razones especializadas del perito para llegar a la conclusión correspondiente. No se cumplirá con este requisito si no se sustenta la conclusión con documentos, objetos, o con la explicación técnica y científica exigida en este numeral.

Sin perjuicio de los requisitos que deben constar obligatoriamente en todo informe pericial, verbal y escrito, el perito designado puede incluir cualquier otra información que considere relevante como parte de su trabajo.

Contenido de las aclaraciones o ampliaciones del informe pericial: toda aclaración o ampliación del informe pericial deberá ser pertinente a la pericia dispuesta, y el perito responderá directamente a los requerimientos ordenados por la o el funcionario judicial competente. (JUDICATURA, CONTENIDO DEL INFORME PERICIAL, 2014)

2.2.7 PENALIZACIÓN DE DELITOS SEXUALES

La pena es una restricción a la libertad y a los derechos de las personas, como consecuencia jurídica de sus acciones u omisiones punibles. Se basa en una disposición legal e impuesta por una sentencia condenatoria ejecutoriada.

CLASIFICACIÓN DE LAS PENAS

Las penas que se imponen en virtud de sentencia firme, con carácter principal o accesorio, son privativas, no privativas de libertad y restrictivas de los derechos de propiedad, de conformidad con este Código.

Penas privativas de libertad.- Las penas privativas de libertad tienen una duración de hasta cuarenta años. La duración de la pena empieza a computarse desde que se materializa la aprehensión. En caso de condena, el tiempo efectivamente cumplido bajo medida cautelar de prisión preventiva o de arresto domiciliario, se computará en su totalidad a favor de la persona sentenciada.

Penas no privativas de libertad.- Son penas no privativas de libertad:

1. Tratamiento médico, psicológico, capacitación, programa o curso educativo.
2. Obligación de prestar un servicio comunitario.
3. Comparecencia periódica y personal ante la autoridad, en la frecuencia y en los plazos fijados en sentencia.
4. Prohibición de salir del domicilio o del lugar determinado en la sentencia.
5. Prohibición de aproximación o comunicación directa con la víctima, sus familiares u otras personas dispuestas en sentencia, en cualquier lugar donde se encuentren o por cualquier medio verbal, audiovisual, escrito, informático, telemático o soporte físico o virtual.

CONDENAS ESTABLECIDAS EN DELITOS SEXUALES

Art. 166.- Acoso sexual.- La persona que solicite algún acto de naturaleza sexual, para sí o para un tercero, prevaliéndose de situación de autoridad laboral, docente, religiosa o similar, sea

tutora o tutor, curadora o curador, ministros de culto, profesional de la educación o de la salud, personal responsable en la atención y cuidado del paciente o que mantenga vínculo familiar o cualquier otra forma que implique subordinación de la víctima, con la amenaza de causar a la víctima o a un tercero, un mal relacionado con las legítimas expectativas que pueda tener en el ámbito de dicha relación, será sancionada con pena privativa de libertad de uno a tres años.

Cuando la víctima sea menor de dieciocho años de edad o persona con discapacidad o cuando la persona no pueda comprender el significado del hecho o por cualquier causa no pueda resistirlo, será sancionada con pena privativa de libertad de tres a cinco años.

La persona que solicite favores de naturaleza sexual que atenten contra la integridad sexual de otra persona, y que no se encuentre previsto en el inciso primero de este artículo, será sancionada con pena privativa de libertad de seis meses a dos años.

Art. 167.- Estupro.- La persona mayor de dieciocho años que recurriendo al engaño tenga relaciones sexuales con otra, mayor de catorce y menor de dieciocho años, será sancionada con pena privativa de libertad de uno a tres años.

Art. 170.- Abuso sexual.- La persona que, en contra de la voluntad de otra, ejecute sobre ella o la obligue a ejecutar sobre sí misma u otra persona, un acto de naturaleza sexual, sin que exista penetración o acceso carnal, será sancionada con pena privativa de libertad de tres a cinco años.

Cuando la víctima sea menor de catorce años de edad o con discapacidad; cuando la persona no tenga capacidad para comprender el significado del hecho o por cualquier causa no pueda resistirlo; o si la víctima, como consecuencia de la infracción, sufra una lesión física o daño psicológico permanente o contraiga una enfermedad grave o mortal, será sancionada con pena privativa de libertad de cinco a siete años.

Si la víctima es menor de seis años, se sancionará con pena privativa de libertad de siete a diez años.

Art. 171.- Violación.- Es violación el acceso carnal, con introducción total o parcial del miembro viril, por vía oral, anal o vaginal; o la introducción, por vía vaginal o anal, de objetos, dedos u órganos distintos al miembro viril, a una persona de cualquier sexo. Quien la comete, será sancionado con pena privativa de libertad de diecinueve a veintidós años en cualquiera de los siguientes casos:

- 1) Cuando la víctima se halle privada de la razón o del sentido, o cuando por enfermedad o por discapacidad no pudiera resistirse.
- 2) Cuando se use violencia, amenaza o intimidación.
- 3) Cuando la víctima sea menor de catorce años.

Se sancionará con el máximo de la pena prevista en el primer inciso, cuando:

- 1) La víctima, como consecuencia de la infracción, sufre una lesión física o daño psicológico permanente.
- 2) La víctima, como consecuencia de la infracción, contrae una enfermedad grave o mortal.
- 3) La víctima es menor de diez años.
- 4) La o el agresor es tutora o tutor, representante legal, curadora o curador o cualquier persona del entorno íntimo de la familia o del entorno de la víctima, ministro de culto o profesional de la educación o de la salud o cualquier persona que tenga el deber de custodia sobre la víctima.
- 5) La o el agresor es ascendiente o descendiente o colateral hasta el cuarto grado de consanguinidad o segundo de afinidad.
- 6) La víctima se encuentre bajo el cuidado de la o el agresor por cualquier motivo.
- 7) En todos los casos, si se produce la muerte de la víctima se sancionará con pena privativa de libertad de veintidós a veintiséis años.

Art. 173.- Contacto con finalidad sexual con menores de dieciocho años por medios electrónicos.- La persona que a través de un medio electrónico o telemático proponga concertar un encuentro con una persona menor de dieciocho años, siempre que tal propuesta se acompañe de actos materiales encaminados al acercamiento con finalidad sexual o erótica, será sancionada con pena privativa de libertad de uno a tres años.

Cuando el acercamiento se obtenga mediante coacción o intimidación, será sancionada con pena privativa de libertad de tres a cinco años.

La persona que suplantando la identidad de un tercero o mediante el uso de una identidad falsa por medios electrónicos o telemáticos, establezca comunicaciones de contenido sexual o erótico con una persona menor de dieciocho años o con discapacidad, será sancionada con pena privativa de libertad de tres a cinco años.

Art. 175.- Disposiciones comunes a los delitos contra la integridad sexual y reproductiva.- Para los delitos previstos en esta Sección se observarán las siguientes disposiciones comunes:

1. En estos delitos, la o el juzgador, adicional a la pena privativa de libertad puede imponer una o varias penas no privativas de libertad.
2. En los casos en los que la o el presunto agresor sea ascendiente o descendiente o colateral hasta el cuarto grado de consanguinidad o segundo de afinidad, cónyuge, excónyuge, conviviente, ex conviviente, pareja o ex pareja en unión de hecho, tutora o tutor, representante legal, curadora o curador o cualquier persona a cargo del cuidado o custodia de la víctima, el juez de Garantías Penales como medida cautelar suspenderá la patria potestad, tutoría, curatela y cualquier otra modalidad de cuidado sobre la víctima a fin de proteger sus derechos. Esta medida también la podrá solicitar la o el fiscal, de oficio o petición de parte la o el juez competente.
3. Para estos delitos no será aplicable la atenuante prevista en el número 2 del artículo 45 de este Código.
4. El comportamiento público o privado de la víctima, anterior a la comisión de la infracción sexual, no es considerado dentro del proceso.
5. En los delitos sexuales, el consentimiento dado por la víctima menor de dieciocho años de edad es irrelevante.
6. Las víctimas en estos delitos pueden ingresar al programa de víctimas y testigos.

LA AUDIENCIA DE JUZGAMIENTO

La Audiencia de Juzgamiento presenta los siguientes momentos procesales:

Expositiva; dentro de este primer momento los sujetos presenta su teoría del caso; momentos donde el fiscal confirma su acusación puesto que la etapa de juicio se sustancia en base a la misma y conforme al R.O No. 238. 28 de marzo del 2006, mismo que consta el fallo pronunciado por la Tercera Sala de lo Penal de la Corte Suprema de Justicia donde indican que "Sin acusación no hay juicio;"

Probatoria; durante este tiempo las partes practican la prueba anuncia en sus escritos, prueba que introducen judicializando en ese momento esto es presentando los documentos a la otra parte para que la misma pueda contradecir, en igual sentido los peritos y testigos solicitados por las partes están sujetos a responder las preguntas que realicen quien los ha solicitado y a responder las repreguntas de la contraparte, así mismo a responder las preguntas que por aclaración solicite el juzgador.

Alegatos; en esta parte que tiene la audiencia las partes hacen un análisis de su acusación y de lo desarrollado en la audiencia, a fin de lograr el convencimiento del operador de justicia. Culminada que fuera la Audiencia el juez deberá Resolver y dictar sentencia únicamente con base en la prueba incorporada y practicada en el juicio por las partes, de acuerdo con las reglas de cada prueba, el derecho y la sana crítica. (JUSTICIA, 2014)

LA SENTENCIA

La palabra sentencia procede del latín sintiendo, que equivale a sintiendo, por expresar la sentencia lo que siente u opina quien dicta. Por ella se entiende la decisión que legítimamente dicta el juez competente, juzgando de acuerdo con su opinión y según la ley o norma aplicable.

La sentencia, se refiere a la resolución judicial que se dé en una causa, según Guillermo Cabanellas es “El más solemne de los mandatos de un juez o tribunal, por oposición a un auto o providencia” en la presente investigación sería la culminación del proceso con una dictamen condenatorio o confirmando el estado de inocencia de la persona acusada. (LEGISLACION, 2008)

2.2.8 CIENCIAS FORENSES

La Ciencia Forense se entiende como el conjunto estructurado y sistematizado de conocimientos, de carácter técnico y científico, generados por la investigación y análisis de los indicios de un hecho presuntamente delictivo, con la finalidad de presentar esos resultados ante la autoridad jurídica correspondiente y coadyuvar en la prevención del delito y, en la procuración y administración de la justicia. Su estudio incluye disciplinas, como: Psiquiatría, Estomatología, Antropología, Entomología, Toxicología, Psicología, Biología y Química Forense; Medicina Legal; Criminología; Criminalística y Derecho, entre otras. También contiene aspectos relacionados con la intervención del experto en el incipiente Sistema de Justicia Penal Acusatorio, en los procedimientos de procuración y administración de la justicia, técnicas moleculares en biología forense y estudio de rasgos de personalidad.

La Ciencia Forense no se circunscribe al estudio de la muerte o de la violencia que la produjo, sino que bajo el método científico y los avances tecnológicos de las disciplinas investiga todo el material sensible significativo que rodea a los hechos en la comisión de delitos o desarrollo de accidentes, con la finalidad de articular indicios y autores, y aportar

pruebas definidas que pudieran relacionarse con el hecho que se investiga. Lo anterior permite demostrar la existencia o no de hechos delictivos ante la autoridad correspondiente. (UNAM, 2013)

CENTROS DE INVESTIGACIÓN DE CIENCIAS FORENSES

La Fiscalía General del Estado cumplió con el objetivo de crear una red de 8 Centros de Investigación de Ciencias Forenses en el Ecuador para impulsar la investigación científica del delito.

Manta, Santo Domingo, Ambato, Machala, Loja, Nueva Loja, Esmeraldas y Cuenca fueron las ciudades escogidas por su ubicación estratégica y por la incidencia de los delitos. Para ello se realizó un estudio previo en el que participo la Secretaria Nacional de Planificación y Desarrollo, SENPLADES.

Según el art.195 de Constitución de la República del Ecuador, la Fiscalía General del Estado” organizara y dirigirá un sistema especializado integral de investigación, de medicina legal y ciencias forenses”. (HERRERA, 2015)

ACREDITACIÓN DE PERITOS

El Perito Forense es un experto que posee una formación práctica-teórica en el área judicial y procesal. Está capacitado para auxiliar técnica y científicamente la investigación judicial en áreas como la búsqueda y análisis de la información, evaluación, fijación, levantamiento e interpretación de cualquier tipo de evidencia. Posee la habilidad para el tratamiento de la evidencia en la cadena de custodia. (PERITOS, 2011)

REQUISITOS PARA CALIFICAR COMO PERITOS.- Las personas que deseen calificarse como peritos de la Función Judicial, deben cumplir con los siguientes requisitos:

1. Ser mayores de edad, ser capaces y estar en ejercicio de sus derechos de participación;
2. Ser conocedoras o conocedores y/o expertas o expertos en la profesión, arte, oficio, o actividad para la cual soliciten calificarse;
3. En el caso de profesionales, tener al menos dos años de graduadas o graduados la fecha de la solicitud de calificación, y cumplir con los requisitos de experiencia establecidos. Para las y los demás expertos tener al menos dos años de práctica y

experiencia a la fecha de la solicitud de calificación, en el oficio, arte o actividad en la cual tengan interés de calificarse;

4. También se podrán presentar, para justificar la experticia y conocimiento de la o el solicitante, hasta diez informes periciales realizados en los últimos dos años, los cuales serán analizados por el Consejo de la Judicatura para determinar si acreditan experticia; y,
5. No hallarse incurso o incursos en las inhabilidades o prohibiciones para ser calificada o calificado como perito previstas en la ley y este reglamento. (JUDICATURA, ACREDITACIÓN DE PERITOS, 2014)

CADENA DE CUSTODIA

La cadena de custodia es el documento escrito en donde quedan reflejadas todas las incidencias de una prueba. En este documento se reflejan los movimientos y acciones ejercidas sobre el elemento físico de la prueba. (MORENO, y otros, 2012)

Es un procedimiento establecido por la normativa jurídica, que garantiza: LA INTEGRIDAD, LA AUTENTICIDAD y LA CONSERVACIÓN del indicio o evidencia.

Permite prevenir:

- a. Alteraciones o adulteraciones.
- b. Sustracciones y sustituciones.
- c. Destrucción y descomposición.

La cadena de custodia se inicia en el lugar donde se obtiene, encuentre o recaude el elemento físico de prueba y finaliza por orden de la autoridad competente.

La cadena de custodia no es otra cosa sino la constatación de todas las personas que han manejado, almacenado y estudiado los indicios, con anotaciones de fechas y lugares de cada uno. (FGE P. J., 2011)

LUCES FORENSES

El equipo de luces forenses permite la visualización de manchas de sangre, semen, orina y otros fluidos cuando no pueden verse a simple vista, ya sea por la obscuridad o porque dichos fluidos hubiesen sido limpiados intencionalmente con el fin de no dejar pistas.

Junto al equipo de luces forenses se utilizan reactivos y luces de nueve colores que se eligen dependiendo la sustancia buscada. Estas luces son susceptibles de usarse sobre superficie de distinta naturaleza, y para citar algunos ejemplos tan solo mencionaremos los más comunes como son vidrios, automóviles, paredes, tela, pisos, lona, tierra, piedras, incluso en campo abierto. Estas mismas luces se pueden utilizar sobre el cuerpo humano en la búsqueda de restos de algún fluido, o marcas producidas por el sujeto activo del delito. (LÓPEZ, 2008)

Una fuente de luz forense se compone de una lámpara de gran alcance que contiene los componentes ultravioletas, visibles e infrarrojos de la luz. Todos los materiales orgánicos pueden despedir luz fluorescente (absorba la luz), en una longitud de onda, por ejemplo, iluminado una huella digital que es invisible al ojo desnudo, con la luz azul verde intensa. La impresión que despedirá será luz fluorescente amarillo y que llegará a ser claramente visible sin el uso de polvos o los tintes.

El mismo procedimiento se puede utilizar para identificar otros elementos de rastro incluyendo semen, saliva, tintas y fibras. Puesto que realzan la visualización de la evidencia por las técnicas ligeras de la interacción incluyendo fluorescencia (la evidencia brilla intensamente), absorción (La evidencia oscurece), e iluminación oblicua (evidencia de la partícula pequeña revelada). (VELASQUEZ, 2012)

La fluorescencia es la propiedad de una sustancia para emitir luz cuando es expuesta a radiaciones de tipo UV, rayos catódicos o rayos X. Las radiaciones absorbidas (invisibles al ojo humano), son transformadas en luz visible. La luz puede ser apreciada mientras la superficie es irradiada con la fuente de luz. El espectro de excitación de las muestras de semen tiene longitudes de onda que van de 350 nm (Luz UV) a 500 nm (Luz Azul-verde). (ASECRIMF, 2011)

2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS

Abuso sexual.- Cualquier atentado contra la violencia sexual de otra persona, realizado sin violencia o intimidación, pero sin que medie consentimiento.

Absorción.- Es un proceso que separa los componentes de un gas a partir de la inclusión de un solvente en estado líquido, con el que crea una solución.

Agresión sexual.- Cualquier atentado contra la libertad sexual de otra persona, realizado con violencia o intimidación.

Audiencia.-Acto que se efectúa para conocer de determinadas personas, los argumentos a favor o en contra de decisiones que proyecten las autoridades.

Ciencias forenses: conjunto de disciplinas cuyo objeto común es el de la materialización de la prueba a efectos judiciales mediante una metodología científica. Cualquier ciencia se convierte en forense en el momento que sirve al procedimiento judicial.

Cadena de Custodia.- Es el conjunto de procedimientos que permiten garantizar la identidad e integridad de las evidencias o indicios recogidos o levantados en la escena del hecho y que serán sometidos a un estudio o análisis. La Cadena de Custodia se inicia en el lugar donde se obtiene o recolecta cada indicio o evidencia, continúa con todos los traslados y movimientos, tanto internos como externos, y se finaliza por orden de la autoridad competente. Los indicios y las evidencias deben ser protegidos contra contaminación, adulteración, sustracción, intercambio o destrucción.

Capilaridad.- es una propiedad de los líquidos que depende de su tensión superficial que le confiere la capacidad de subir o bajar por un tubo capilar.

Etiquetado.- Todo indicio debe ser identificado con una etiqueta correspondiente y única que debe contener los siguientes datos:

- Fecha y hora.
- Número de indicio o evidencia.
- Número de registro (folio o llamado).
- Domicilio exacto del lugar de los hechos y/o del hallazgo, ubicación exacta dentro del lugar donde el indicio fue recolectado, así como su descripción material.
- Observaciones adicionales.

- Nombre completo, sin abreviaturas, del agente policial, perito o auxiliar responsable de la recolección y el embalaje.

Espermatozoide o Espermatozoo.- Célula sexual masculina, producida en los testículos, destinada a la fecundación del óvulo.

Evidencia.-Es el indicio o rastro sometido a un análisis y a un dictamen periciales que permitirán corroborar que tiene relación con el hecho que se investiga.

Fluidos Orgánicos.- son aquellos que se encuentran en la escena del crimen: sangre, semen plumas, pelos, secreción vaginal, etc

Informe Pericial.-hace referencia a los informes redactados por un perito, especialista algún arte u oficio, que sirva como fuente de asesoramiento al juez en las cuestiones que se soliciten. Es un documento que contiene información clínica y que tiene carácter jurídico. Debe ser imparcial y el contenido debe mostrarse al juez, a las partes y al cliente, bajo su previo conocimiento. Consiste en corroborar o desmentir la propuesta de la demanda jurídica y las razones que nos llevan a tales conclusiones

Indicio.- Todo material sensible significativo localizado en el lugar de los hechos (signo, muestra, manifestación, señal, vestigio, marca, rastro, pista, indicador).

Laboratorio Biológico.- se fundamenta en los procesos de protección, búsqueda, fijación, colección, embalaje, rotulado, etiquetaje, traslado y preservación, para el análisis mediante procedimientos metodológicos efectivos de la Inmunología y Bioquímica, de fluidos y material de origen biológico, tales como: sangre, semen, saliva, sudor, orina, heces fecales, pulpejos dactilares, apéndices córneos, por cuanto se requiere manejar acuciosamente todos los indicios de interés criminalístico.

Luminol.- es un derivado del ácido ftálico. Se trata de un sólido verdoso poco soluble. Su mayor importancia reside en la reacción de quimioluminiscencia que da con peróxidos en presencia de complejos de hierro como catalizadores.

Osmosis.- es un proceso físico-químico que hace referencia al pasaje de un disolvente, aunque no de soluto, entre dos disoluciones que están separadas por una membrana con características de semipermeabilidad. Estas disoluciones, por otra parte, poseen diferente concentración.

P-30.- Es una glicoproteína producida por células de la glándula prostática en el varón, ha sido bastante caracterizada y validada por la comunidad Científica de Forenses, como un marcador específico de la presencia de fluido seminal.

Pericia.- puede ser un estudio que desarrolla un perito sobre un asunto encomendado por un juez, un tribunal u otra autoridad, que incluye la presentación de un informe (el informe pericial o dictamen pericial). Este informe puede convertirse en una prueba pericial y contribuir al dictado de una sentencia.

Perito.- Es la persona versada en una ciencia arte u oficio, cuyos servicios son utilizados por el juez para que lo ilustre en el esclarecimiento de un hecho que requiere de conocimientos especiales científicos o técnicos.

Peritaje.- Es el examen y estudio que realiza el perito sobre el problema encomendado para luego entregar su informe o dictamen pericial con sujeción a lo dispuesto por la ley.

Prueba.- argumento, instrumento u otro medio con que se pretende mostrar y hacer patente la verdad o falsedad de algo

Semen o Esperma: Es un líquido viscoso y blanquecino que es expulsado a través del pene durante la eyaculación. Está compuesto por espermatozoides (de los testículos) y plasma seminal que se forma por el aporte de los testículos, el epidídimo, las vesículas seminales, la próstata, las glándulas de Cowper, las glándulas de Littre y los vasos deferentes.

2.4. HIPÓTESIS:

En las evidencias analizadas de las personas víctimas de agresión sexual siempre se va a encontrar proteína P30 y espermatozoides producto de la eyaculación o excitación sexual.

2.5. VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN

2.5.1. VARIABLE INDEPENDIENTE: Determinación de proteína P-30 y rastreo de espermatozoides

2.5.2. VARIABLE DEPENDIENTE: Personas víctimas de agresión sexual en el Centro de Investigación de Ciencias Forenses-Tungurahua en el período Enero-Agosto 2015.

2.6. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLES	DEFINICIONES CONCEPTUALES	CATEGORÍAS	INDICADORES	TÉCNICAS E INSTRUMENTOS
Variable Independiente: Determinación de proteína P-30 y rastreo de espermatozoides	Glicoproteína de producido con el fin de licuar el semen eyaculado y permitir un medio para que los espermatozoides se movilen libremente.	PSA Marcador en Ciencias Forenses	Análisis Proteína P30: Presencia de Proteína P30 (Positivo). Rastreo de Espermatozoides: Presencia de Espermatozoides (Positivo).	TÉCNICA: Observación Instrumento: Resultado de Análisis
Variable Dependiente: Personas víctimas de agresión sexual en el Centro de Investigación de Ciencias Forenses-Tungurahua en el período Enero-Agosto 2015.	Cualquier atentado contra la libertad sexual de otra persona, realizado con violencia o intimidación	Delito Victima	Reconocimiento Médico Legal	TÉCNICA: Observación Instrumento: Resultado de Análisis

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1. MÉTODO CIENTÍFICO

Método Inductivo.- Por que partimos de lo particular para llegar a lo general

3.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN

El tipo que de investigación que se sustentó este trabajo en una **“INVESTIGACIÓN DE CAMPO”** porque lo realizamos en el mismo lugar de los hechos, también es una **“INVESTIGACIÓN BIBLIOGRÁFICA”** porque nos sustentamos en documentos , libros, revistas, etc. Para sustentar como lo tenemos en el marco teórico y es de **“LABORATORIO”** porque se realizó exámenes forenses para determinar si existió agresión sexual.

3.3. TIPO DE ESTUDIO

“RETROSPECTIVO” y **“TRANSVERSAL”** porque al realizar el presente estudio se recolectaron los datos de los registros del C.I.C.F. Tungurahua del mes de Enero a Agosto del 2015.

3.4. POBLACIÓN Y MUESTRA

3.4.1. POBLACIÓN

Personas víctimas de agresión sexual cuyos peritajes fueron remitidos al Centro de Investigación de Ciencias Forenses de Tungurahua durante el periodo Enero - Agosto del 2015.

3.4.2. MUESTRA

La muestra no se aplicó ninguna fórmula porque el universo es pequeño y se trabajó con toda la población

3.5. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS.

La técnica que utilizamos en esta investigación es la observación y recolección de resultados de los análisis forenses realizados y los informes estadísticos del Laboratorio de Biología Forense del CICF Tungurahua

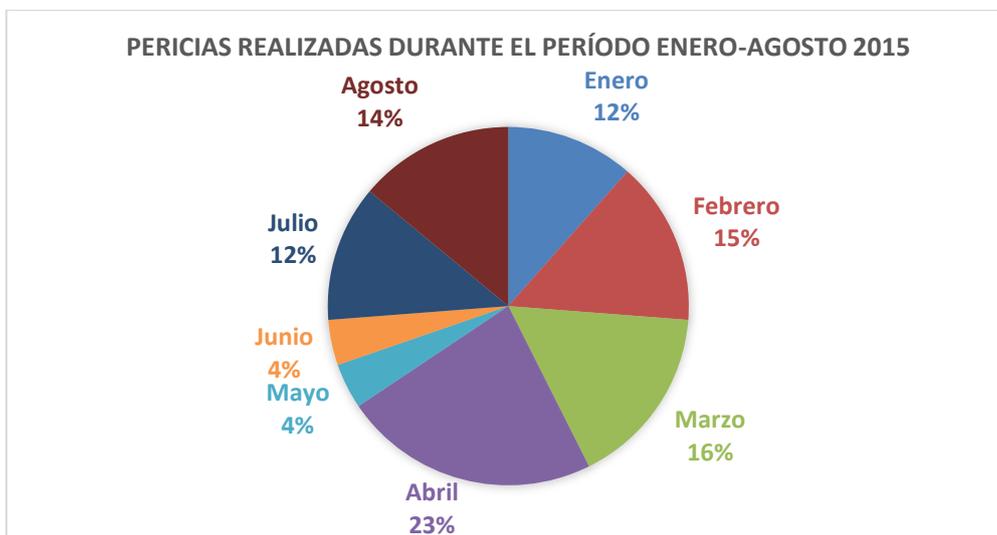
3.6. TÉCNICAS PARA EL PROCESO Y ANÁLISIS DE DATOS

PERICIAS REALIZADAS DURANTE EL PERÍODO ENERO-AGOSTO 2015

Alternativa	Frecuencia	%
Enero	14	12
Febrero	18	15
Marzo	20	16
Abril	28	23
Mayo	5	4
Junio	5	4
Julio	15	12
Agosto	17	14
Total	122	100%

Fuente: Datos obtenidos de C.I.C.F.T.

Elaborado por: Cisneros Jhomayra, Villarroel Carla; Estudiantes de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico



Fuente: Datos obtenidos de C.I.C.F.T.

Elaborado por: Cisneros Jhomayra, Villarroel Carla; Estudiantes de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN:

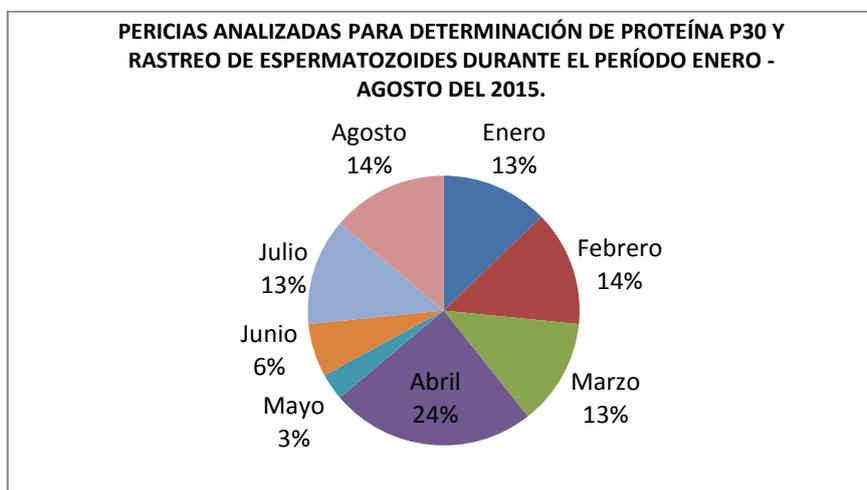
Según el gráfico interpretamos que se han realizado 122 pericias que se han remitido al C.I.C.F. Tungurahua de las cuales en el mes de Abril se han incrementado el número de casos para el análisis de evidencias que han llegado al Laboratorio de Biología Forense.

PERICIAS ANALIZADAS PARA DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA P-30 Y RASTREO DE ESPERMATOZOIDES DURANTE EL PERÍODO ENERO -AGOSTO DEL 2015

Alternativa	Frecuencia	%
Enero	12	13
Febrero	13	14
Marzo	12	13
Abril	23	24
Mayo	3	3
Junio	6	6
Julio	12	13
Agosto	13	14
Total	94	100%

Fuente: Datos obtenidos de C.I.C.F.T.

Elaborado por: Cisneros Jhomayra, Villarroel Carla; Estudiantes de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico



Fuente: Datos obtenidos de C.I.C.F.T.

Elaborado por: Cisneros Jhomayra, Villarroel Carla; Estudiantes de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN:

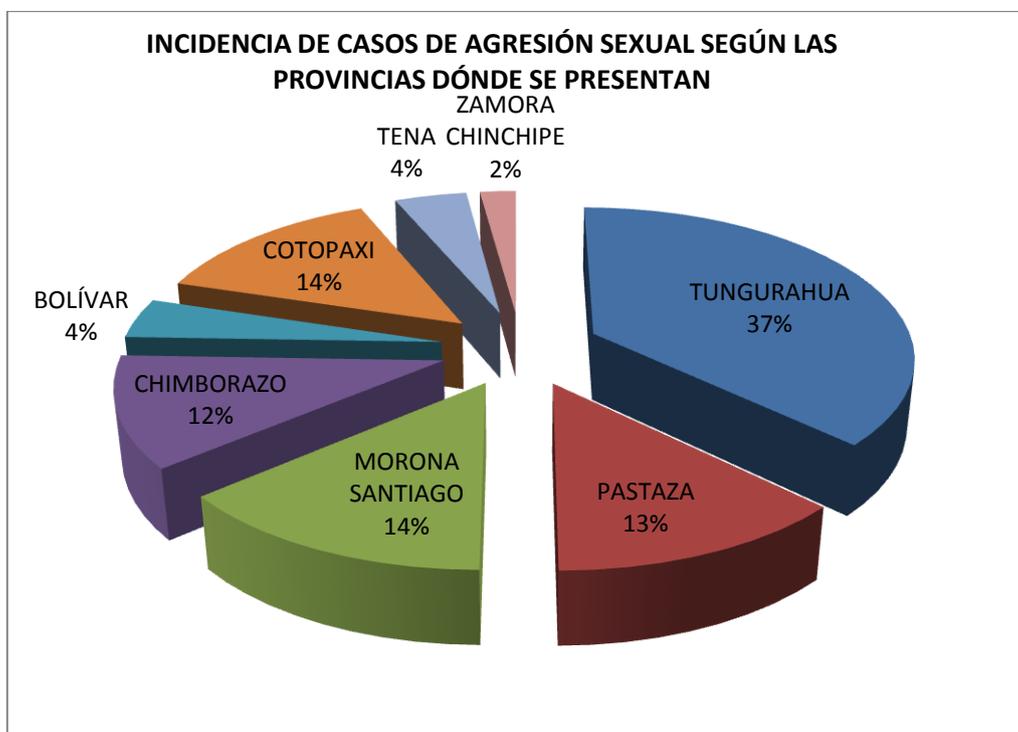
Según el gráfico interpretamos que de los 122 pericias recibidas en el C.I.C.F. Tungurahua solo existieron 94 pericias para la determinación de Proteína P-30 y Rastreo de Espermatozoides notando que Abril es el mes en el que más pericias se han recibido con un porcentaje que abarca el 24% del total de pericias analizadas.

INCIDENCIA DE CASOS DE AGRESIÓN SEXUAL SEGÚN LAS PROVINCIAS DÓNDE SE PRESENTAN

Alternativa	Frecuencia	%
Tungurahua	35	37
Pastaza	12	13
Morona Santiago	13	14
Chimborazo	11	12
Bolívar	4	4
Cotopaxi	13	14
Tena	4	4
Zamora Chinchipe	2	2
Total	94	100%

Fuente: Datos obtenidos de C.I.C.F.T.

Elaborado por: Cisneros Jhomayra, Villarroel Carla; Estudiantes de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico



Fuente: Datos obtenidos de C.I.C.F.T.

Elaborado por: Cisneros Jhomayra, Villarroel Carla; Estudiantes de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN:

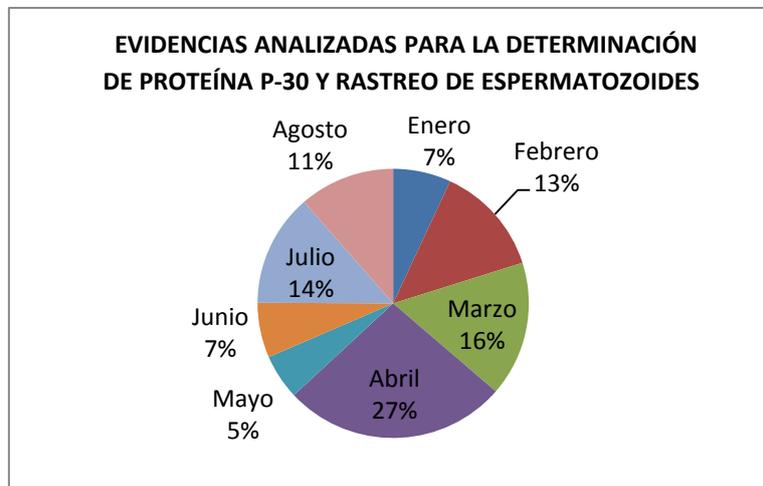
Según el gráfico se puede notar que la provincia de Tungurahua es la que más casos de agresión sexual ha presentado durante el período Enero-Agosto 2015 representando un 37% de incidencia en relación a las demás provincias.

EVIDENCIAS ANALIZADAS PARA LA DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA P-30 Y RASTREO DE ESPERMATOZOIDES

Alternativa	Frecuencia	%
Enero	23	7
Febrero	44	13
Marzo	54	16
Abril	89	27
Mayo	18	5
Junio	22	7
Julio	45	14
Agosto	38	11
Total	333	100%

Fuente: Datos obtenidos de C.I.C.F.T.

Elaborado por: Cisneros Jhomayra, Villarroel Carla; Estudiantes de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico



Fuente: Datos obtenidos de C.I.C.F.T.

Elaborado por: Cisneros Jhomayra, Villarroel Carla; Estudiantes de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN:

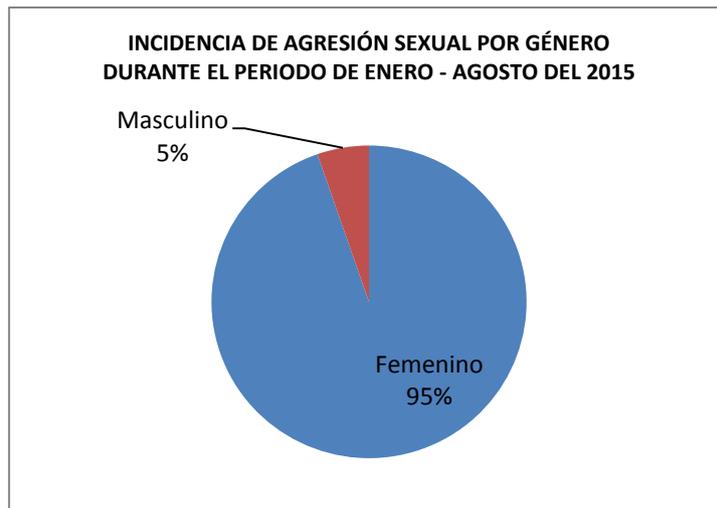
Según el gráfico interpretamos que el total de evidencias analizadas es de 333, deduciendo que en los meses de Febrero, Marzo, Abril y Julio se han recibido la mayor cantidad de evidencias para su análisis.

INCIDENCIA DE AGRESIÓN SEXUAL POR GÉNERO DURANTE EL PERIODO DE ENERO - AGOSTO DEL 2015

Alternativa	Frecuencia	%
Femenino	89	95
Masculino	5	5
Total	94	100%

Fuente: Datos obtenidos de C.I.C.F.T.

Elaborado por: Cisneros Jhomayra, Villarroel Carla; Estudiantes de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico



Fuente: Datos obtenidos de C.I.C.F.T.

Elaborado por: Cisneros Jhomayra, Villarroel Carla; Estudiantes de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN:

Según el gráfico interpretamos que el género más vulnerable de sufrir agresiones sexuales es el Femenino con una incidencia del 95%.

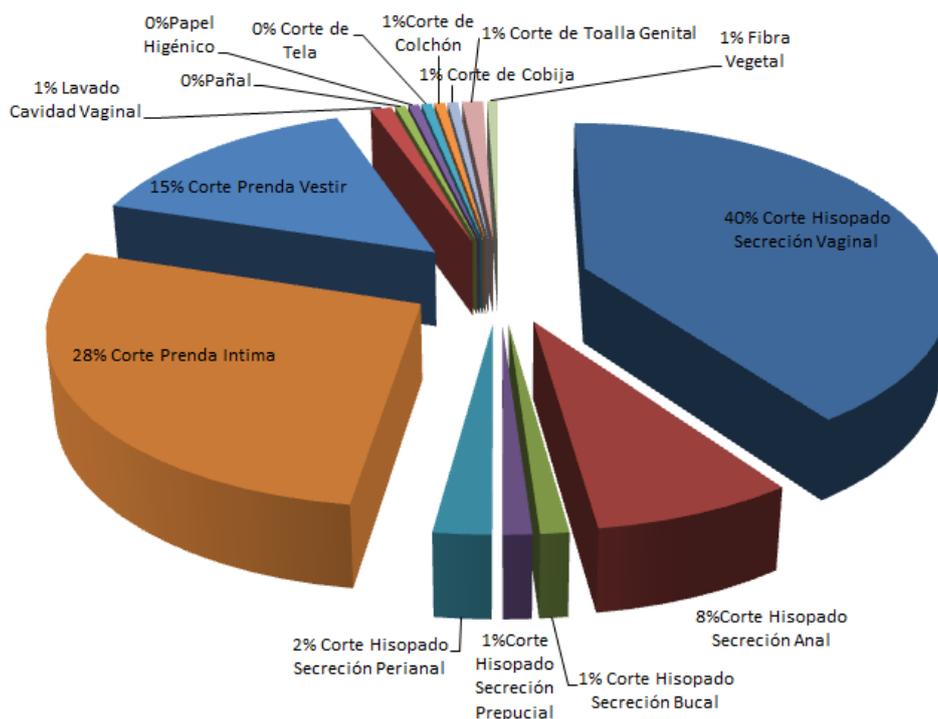
TIPOS DE EVIDENCIAS ANALIZADAS EN DELITOS SEXUALES PARA DETERMINACION DE PROTEÍNA P-30 DURANTE EL PERIODO DE ENERO - AGOSTO DEL 2015.

Alternativa	Frecuencia	%
Corte Hisopados Secreción Vaginal	74	40
Corte Hisopados Secreción Anal	14	8
Corte Hisopados Secreción Bucal	2	1
Corte Hisopados Secreción Prepucial	2	1
Corte Hisopados Secreción Perianal	4	2
Corte Prenda Intima	51	28
Corte Prenda Vestir	27	15
Lavado Cavidad Vaginal	2	1
Pañal	1	0
Papel Higiénico	1	0
Corte de Tela	1	0
Corte de Colchón	1	1
Corte de Cobija	1	1
Corte de Toalla Genital	2	1
Fibra Vegetal	1	1
Total	184	100%

Fuente: Datos obtenidos de C.I.C.F.T.

Elaborado por: Cisneros Jhomayra, Villarroel Carla; Estudiantes de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico

TIPOS DE EVIDENCIAS ANALIZADAS EN DELITOS SEXUALES PARA DETERMINACION DE PROTEÍNA P-30 DURANTE EL PERIODO DE ENERO - AGOSTO DEL 2015



Fuente: Datos obtenidos de C.I.C.F.T.

Elaborado por: Cisneros Jhomayra, Villarroel Carla; Estudiantes de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN:

Según el gráfico interpretamos que de acuerdo a los tipos de evidencias analizadas en el C.I.C.F. Tungurahua los más utilizados para la determinación de proteína P-30 son los cortes de hisopados de secreción vaginal con un porcentaje del 40% y los cortes de prendas íntimas con un 28%

TIPOS DE EVIDENCIAS ANALIZADAS EN DELITOS SEXUALES PARA RASTREO DE ESPERMATOZOIDES DURANTE EL PERIODO DE ENERO - AGOSTO DEL 2015

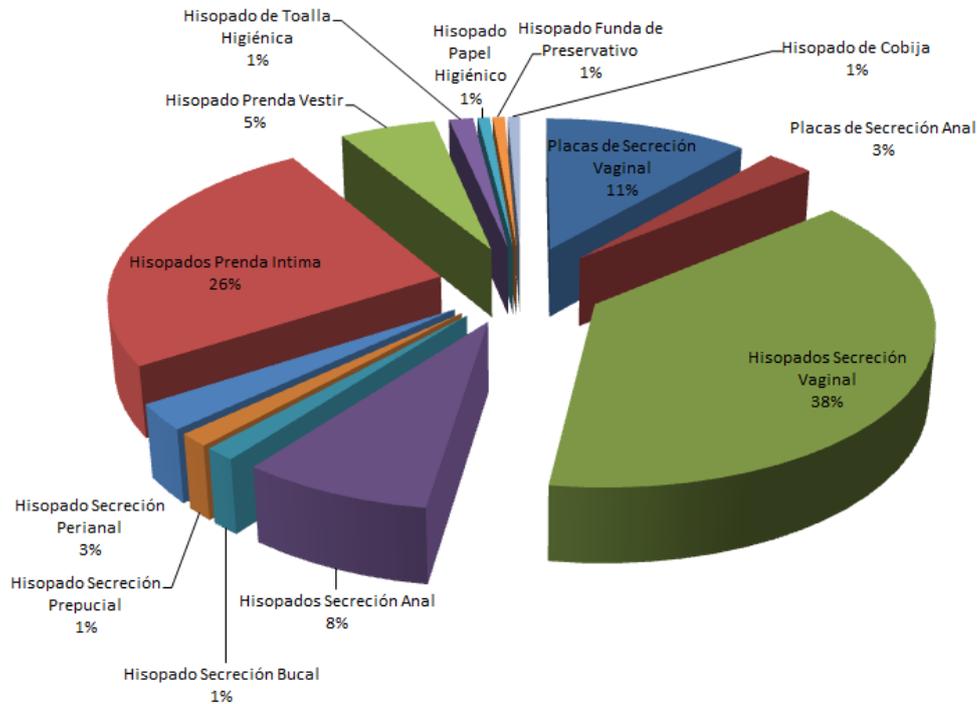
Alternativa	Frecuencia	%
Placas de Secreción Vaginal	17	11
Placas de Secreción Anal	4	3
Hisopados Secreción Vaginal	57	38
Hisopados Secreción Anal	12	8
Hisopado Secreción Bucal	2	1
Hisopado Secreción Prepucial	2	1
Hisopado Secreción Perianal	4	3
Hisopados Prenda Intima	38	26
Hisopado Prenda Vestir	8	5
Hisopado de Toalla Higiénica	2	1
Hisopado Papel Higiénico	1	1

Hisopado Funda de Preservativo	1	1
Hisopado de Cobija	1	1
Total	149	100%

Fuente: Datos obtenidos de C.I.C.F.T.

Elaborado por: Cisneros Jhomayra, Villarroel Carla; Estudiantes de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico

TIPOS DE EVIDENCIAS ANALIZADAS EN DELITOS SEXUALES PARA RASTREO DE ESPERMATOZOIDES DURANTE EL PERIODO DE ENERO - AGOSTO DEL 2015



Fuente: Datos obtenidos de C.I.C.F.T.

Elaborado por: Cisneros Jhomayra, Villarroel Carla; Estudiantes de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN:

Según el gráfico interpretamos que de acuerdo a los tipos de evidencias analizadas en el C.I.C.F. Tungurahua los más utilizados para el Rastreo de Espermatozoides son los hisopados de secreción vaginal con un porcentaje del 38% y los hisopados de prendas íntimas con un 26%.

EVIDENCIAS QUE ARROJAN RESULTADOS POSITIVOS EN LA DETERMINACION DE PROTEÍNA P-30 DURANTE EL PERIODO DE ENERO - AGOSTO DEL 2015

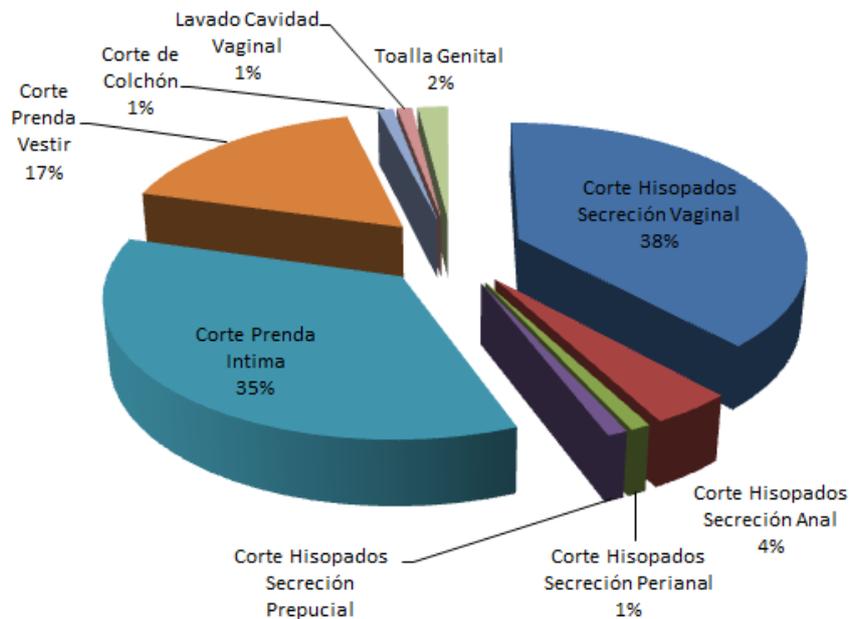
Alternativa	Frecuencia	%
Corte Hisopados Secreción Vaginal	39	38
Corte Hisopados Secreción Anal	4	4
Corte Hisopados Secreción Perianal	1	1
Corte Hisopados Secreción Prepucial	1	1
Corte Prenda Intima	36	35
Corte Prenda Vestir	17	17
Corte de Colchón	1	1

Lavado Cavidad Vaginal	1	1
Toalla Genital	2	2
Total	102	100%

Fuente: Datos obtenidos de C.I.C.F.T.

Elaborado por: Cisneros Jhomayra, Villarroel Carla; Estudiantes de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico

EVIDENCIAS QUE ARROJAN RESULTADOS POSITIVOS EN LA DETERMINACION DE PROTEÍNA P-30 DURANTE EL PERIODO DE ENERO - AGOSTO DEL 2015.



Fuente: Datos obtenidos de C.I.C.F.T.

Elaborado por: Cisneros Jhomayra, Villarroel Carla; Estudiantes de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN:

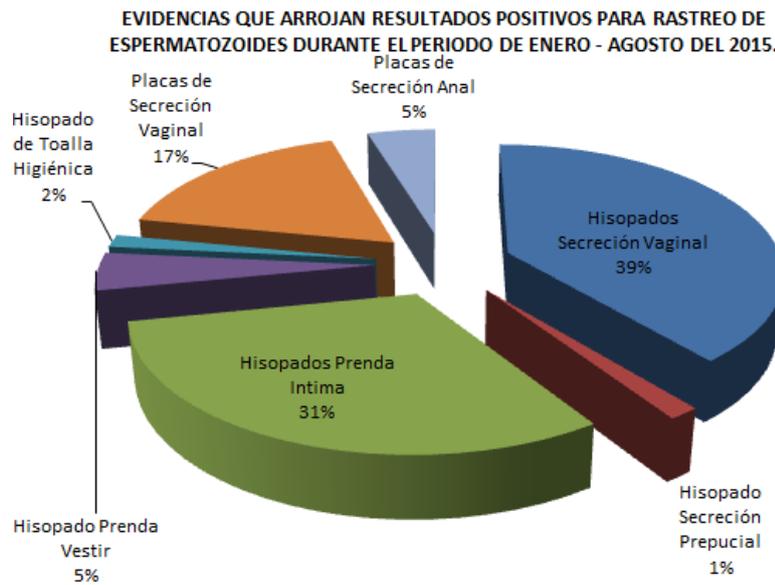
Según el gráfico interpretamos que de todas las evidencias analizadas, las que mayor incidencia tuvieron y arrojaron resultados positivos para la determinación de proteína P-30 fueron los cortes de hisopados de secreción vaginal con un 38 % y los cortes de prendas íntimas con un 35%.

EVIDENCIAS QUE ARROJAN RESULTADOS POSITIVOS PARA RASTREO DE ESPERMATOZOIDES DURANTE EL PERIODO DE ENERO - AGOSTO DEL 2015

Alternativa	Frecuencia	%
Hisopados Secreción Vaginal	25	39
Hisopado Secreción Prepuccial	1	1
Hisopados Prenda Intima	20	31
Hisopado Prenda Vestir	3	5
Hisopado de Toalla Higiénica	1	2
Placas de Secreción Vaginal	11	17
Placas de Secreción Anal	3	5
Total	64	100%

Fuente: Datos obtenidos de C.I.C.F.T.

Elaborado por: Cisneros Jhomayra, Villarroel Carla; Estudiantes de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico



Fuente: Datos obtenidos de C.I.C.F.T.

Elaborado por: Cisneros Jhomayra, Villarroel Carla; Estudiantes de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN:

Según el gráfico interpretamos que de todas las evidencias analizadas, las que mayor incidencia tuvieron y arrojaron resultados positivos para rastreo de espermatozoides fueron los hisopados de secreción vaginal con un 39 % y los hisopados de prendas íntimas con un 31%.

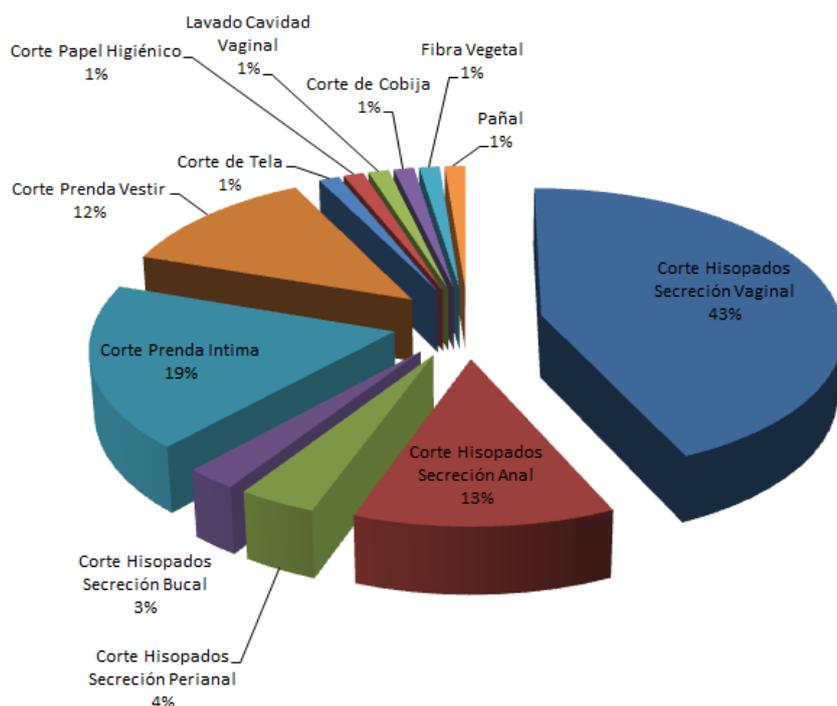
EVIDENCIAS QUE ARROJAN RESULTADOS NEGATIVOS EN LA DETERMINACION DE PROTEÍNA P-30 DURANTE EL PERIODO DE ENERO - AGOSTO DEL 2015

Alternativa	Frecuencia	%
Corte Hisopados Secreción Vaginal	35	43
Corte Hisopados Secreción Anal	10	13
Corte Hisopados Secreción Perianal	3	4
Corte Hisopados Secreción Bucal	2	3
Corte Prenda Intima	15	19
Corte Prenda Vestir	10	12
Corte de Tela	1	1
Corte Papel Higiénico	1	1
Lavado Cavidad Vaginal	1	1
Corte de Cobija	1	1
Fibra Vegetal	1	1
Pañal	1	1
Total	81	100%

Fuente: Datos obtenidos de C.I.C.F.T.

Elaborado por: Cisneros Jhomayra, Villarroel Carla; Estudiantes de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico

EVIDENCIAS QUE ARROJAN RESULTADOS NEGATIVOS EN LA DETERMINACION DE PROTEÍNA P-30 DURANTE EL PERIODO DE ENERO - AGOSTO DEL 2015.



Fuente: Datos obtenidos de C.I.C.F.T.

Elaborado por: Cisneros Jhomayra, Villarroel Carla; Estudiantes de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN:

Según el gráfico interpretamos que de todas las evidencias analizadas, las que mayor incidencia tuvieron y arrojaron resultados negativos para determinación de proteína P-30 fueron los hisopados de secreción vaginal con un 43 % y los hisopados de prendas íntimas con un 19%

EVIDENCIAS QUE ARROJAN RESULTADOS NEGATIVOS PARA RASTREO DE ESPERMATOZOIDES DURANTE EL PERIODO DE ENERO - AGOSTO DEL 2015.

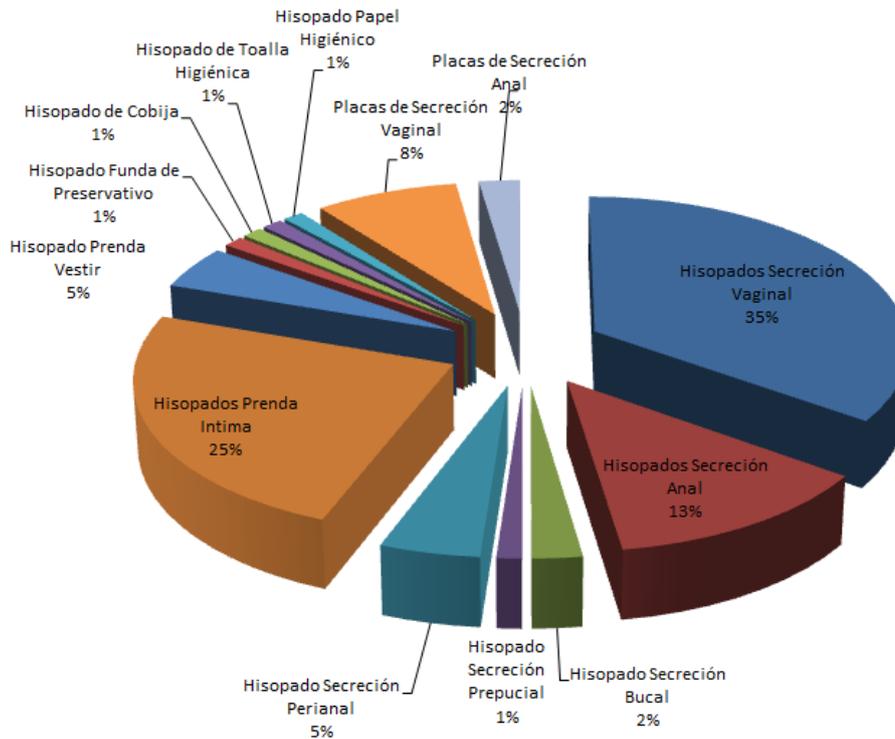
Alternativa	Frecuencia	%
Hisopados Secreción Vaginal	30	35
Hisopados Secreción Anal	11	13
Hisopado Secreción Bucal	2	2
Hisopado Secreción Prepuccial	1	1
Hisopado Secreción Perianal	4	5
Hisopados Prenda Intima	21	25
Hisopado Prenda Vestir	4	5
Hisopado Funda de Preservativo	1	1
Hisopado de Cobija	1	1
Hisopado de Toalla Higiénica	1	1
Hisopado Papel Higiénico	1	1

Placas de Secreción Vaginal	7	8
Placas de Secreción Anal	2	2
Total	86	100%

Fuente: Datos obtenidos de C.I.C.F.T.

Elaborado por: Cisneros Jhomayra, Villarroel Carla; Estudiantes de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico

EVIDENCIAS QUE ARROJAN RESULTADOS NEGATIVOS PARA RASTREO DE ESPERMATOZOIDES DURANTE EL PERIODO DE ENERO - AGOSTO DEL 2015.



Fuente: Datos obtenidos de C.I.C.F.T.

Elaborado por: Cisneros Jhomayra, Villarroel Carla; Estudiantes de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN:

Según el gráfico interpretamos que de todas las evidencias analizadas, las que mayor incidencia tuvieron y arrojaron resultados negativos para rastreo de espermatozoides fueron los hisopados de secreción vaginal con un 35 % y los hisopados de prendas íntimas con un 25%.

CAPÍTULO IV

4.1 CONCLUSIONES

- ✦ De acuerdo a las pruebas descritas, se identificó que las más utilizadas en análisis forenses para determinar una agresión sexual son la determinación de proteína P-30 y el rastreo de espermatozoides mediante la tinción de árbol de navidad.
- ✦ Se explicó que para la determinación de proteína P-30 el método se basa en una reacción inmunocromatográfica que utiliza un anticuerpo monoclonal, mientras que para tinción árbol de navidad el método se fundamenta en la afinidad de la cabeza del espermatozoide por los colorantes básicos (kernechtrot) y la afinidad de la cola por los colorantes ácidos (pícrico-índigo carmín)
- ✦ En base a las técnicas reconocidas existen diferentes métodos para levantar semen en una escena del crimen y su aplicación dependerá del estado en que el mismo sea encontrado (líquido, cavidades corporales, seco sobre superficies, en prendas o telas).

4.2 RECOMENDACIONES

- Ⓢ Se recomienda el uso de las barreras de protección en todas las actividades que se realicen en el laboratorio y extremar el uso de las mismas en la escena del crimen.
- Ⓢ El uso de las lámparas forenses es muy útil en la identificación de máculas de semen en la escena del crimen y en las prendas remitidas para los análisis de laboratorio.
- Ⓢ Los cortes de las prendas para análisis de proteína P-30 deben medir mínimo 0.5 por 0.5 mm y máximo 1 cm para así obtener resultados veraces.
- Ⓢ Realizar controles positivos y negativos de cada kit de determinación de proteína P-30 antes de su uso y así mismo después cada preparación de reactivos para la tinción de árbol de navidad.
- Ⓢ Los reactivos para la tinción de árbol de navidad deben ser filtrados con frecuencia para evitar precipitados en la placa.

BIBLIOGRAFÍA

- ASECRIMF. (12 de 01 de 2011). *ASECRIMF*. Recuperado el 01 de 04 de 2016, de MÉTODOS DE RECONOCIMIENTO, IDENTIFICACIÓN E INDIVIDUALIZACIÓN DE MANCHAS DE SEMEN: <http://asecrimf.blogcindario.com/2011/01/00015-metodos-de-reconocimiento-identificacion-e-individualizacion-de-manchas-de-semen-i-parte.html>
- CARREÑO, J. (25 de 05 de 2012). *MPFN*. Recuperado el 18 de 04 de 2016, de ASPECTOS Y TÉCNICAS DE EVALUACION MÉDICO LEGAL: http://www.mpfm.gob.pe/escuela/contenido/actividades/docs/2231_05_examenes_de_laboratorio_y_uso_de_la_tec_en_dcls_26.pdf
- ESTEVEZ, J. (Octubre de 2008). *USAC.EDU*. Recuperado el 17 de 08 de 2015, de FORMACION CRIMINALISTICA ENFOQUE PERICIAL ALGUNOS ASPECTOS DE LA INVESTIGACION CIENTIFICA FORENSE: <http://digi.usac.edu.gt/bvirtual/informes/rapidos2008/INF-2008-011.pdf>
- FGE. (2012). MANUAL DE PROCEDIMIENTOS DE LABORATORIO DE BIOLOGÍA FORENSE. *SISTEMA ESPECIALIZADO INTEGRAL DE INVESTIGACIÓN, DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES*, 12-16.
- FGE. (08 de Agosto de 2012). MANUAL DE PROCEDIMIENTOS DEL LABORATORIO DE BIOLOGÍA FORENSE. *SISTEMA ESPECIALIZADO E INTEGRAL DE INVESTIGACIÓN, DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES*, 17-21.
- FGE. (08 de Agosto de 2014). SISTEMA ESPECIALIZADO INTEGRAL DE INVESTIGACIÓN EN MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES. *MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA EL LABORATORIO DE ADN HUMANO*.
- FGE, P. J. (2011). *MANUAL DE PROCEDIMIENTOS INVESTIGATIVOS*. Quito: PJ.
- HENOCHOWICS, S. (2010). *ELERGINOMISTA*. Recuperado el 25 de 04 de 2010, de ANTÍGENO Y ANTICUERPO, REACCIÓN ANTÍGENO ANTICUERPO: <http://www.elergonomista.com/biologiasselectividad/sb08.html>
- HERRERA, F. (17 de 02 de 2015). FISCALÍA COMPLETÓ APERTURA DE 8 CENTROS FORENSES EN ECUADOR. *ECUADOR INMEDIATO*, págs. 1-2.
- INFINITY, S. (2016). *INFINITY SOFTWARE*. Recuperado el 16 de 01 de 2016, de INFINITY SOFTWARE: <http://infinity-software1.software.informer.com/6.2/>
- JIMÉNEZ, M. (Junio de 2012). *biblioteca.usac*. Recuperado el 20 de 03 de 2016, de ASOCIACIÓN DE RESULTADOS OBTENIDOS EN ANÁLISIS PARA LA DETECCIÓN DE SEMEN Y ESPERMATOZOIDES: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_3310.pdf
- JUDICATURA, C. D. (10 de 03 de 2014). ACREDITACIÓN DE PERITOS. *REGLAMENTO DEL SISTEMA PERICIAL INTEGRAL DE FUNCIÓN JUDICIAL*, 2-3.

- JUDICATURA, C. D. (2014). CONTENIDO DEL INFORME PERICIAL. *REGLAMENTO DEL SISTEMA PERICIAL INTEGRAL DE LA FUNCION JUDICIAL*, 12.
- JUSTICIA, M. D. (2014). *CODIGO ORGÁNICO INTEGRAL PENAL*. QUITO: GRAFICAS AYERVE C.A.
- LEGISLACION, C. D. (2008). *CODIGO CIVIL ECUATORIANO*. Quito.
- LÓPEZ, J. (2008). *CRIMINALÍSTICA ACTUAL LEY, CIENCIA Y ARTE*. España: Euroméxico.
- MARTÍNEZ, P., & VALLEJO, G. (15 de 06 de 2012). *ELSEVIER*. Recuperado el 31 de 03 de 2016, de VISUALIZACIÓN MICROSCÓPICA EN AGRESIONES SEXUALES: http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet?_f=10&pident_articulo=90142772&pident_usuario=0&pcontactid=&pident_revista=285&ty=122&accion=L&origen=zonadelectura&web=www.elsevier.es&lan=es&fichero=285v38n02a90142772pdf001.pdf
- MCA ABACUS DIAGNOSTICS, I. (15 de 09 de 2008). *ZOGBI*. Recuperado el 12 de 04 de 2016, de PRUEBA PARA IDENTIFICACION FORENSE DE SEMEN: <http://www.dczogbi.com/placas.html>
- MORENO, R., ORTIZ, M., JÁCOME, M., VARGAS, B., NARANJO, M., OVIEDO, M., y otros. (2012). *PROTOCOLO NACIONAL PARA TOMA, LEVANTAMIENTO, EMBALAJE Y ENVÍO DE INDICIOS Y MUESTRAS BIOLÓGICAS A LOS LABORATORIOS FORENSES DE LA REPÚBLICA DEL ECUADOR*. Quito: PRODUCCIÓN GRÁFICA.
- MURCIA, U. D. (2009). *OCUM*. Recuperado el 16 de 01 de 2016, de MICROSCOPÍA APLICADA A LAS CIENCIAS FORENSES: <http://ocw.um.es/ciencias/microscopia-aplicada-a-las-ciencias-forenses>
- OLYMPUS. (2016). *OLYMPUS LATINOAMERICA*. Recuperado el 16 de 01 de 2016, de NAVEGADOR DE IMÁGENES DIGITALES BIOLÓGICAS: http://www.olympuslatinoamerica.com/spanish/seg/seg_research_esp.asp?d=2&s=14
- PARRA, G. (21 de 04 de 2010). *EBLOG*. Recuperado el 17 de 04 de 2016, de AISLAMIENTO Y PROTECCIÓN DE LA ESCENA DEL CRIMEN: <http://aislamientoyproteccion-gsch.blogspot.com/2010/04/aislamiento-y-proteccion-de-la-escena.html>
- PELLO, R., & RAMÍREZ, E. (21 de 08 de 2015). *AEBM.ORG*. Recuperado el 07 de 09 de 2015, de ANÁLISIS BASICO DEL SEMEN: <http://www.aebm.org/jornadas/liquididos/LIQUIDO%20SEMINAL.pdf>
- PERITOS, A. D. (2011). *APAJCM*. Recuperado el 15 de 10 de 2015, de PERITO FORENSE: <http://www.apajcm.com/perito-forense.html>
- QUISPE, S., GUERRA, S., & SOLÍZ, R. (2009). PESQUISA DEL FLUIDO SEMINAL EN VÍCTIMAS DE VIOLENCIA SEXUAL POR EL LABORATORIO FORENSE. *REVISTA MÉDICA LA PAZ*, 3-4.
- UNAM, F. D. (29 de 01 de 2013). CIENCIAS FORENSES. *PLAN DE ESTUDIOS DE LA LICENCIATURA EN CIENCIA FORENSE*, 1-2.

VELASQUEZ, D. (17 de 09 de 2012). *PREZI*. Recuperado el 20 de 10 de 2015, de LUCES FORENSES: <https://prezi.com/wopkuii50ojv/luces-forenses/>

4.3 ANEXOS

CENTRO DE INVESTIGACION CIENCIAS FORENSES TUNGURAHUA



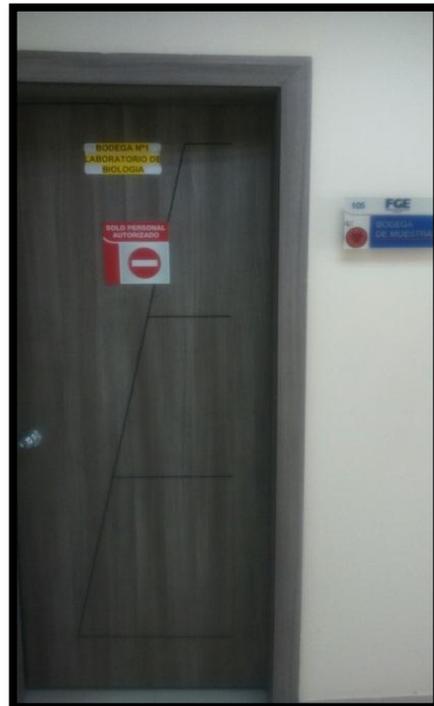
Fuente: C.I.C.F.Tungurahua

LABORATORIO DE BIOLOGIA CICFT



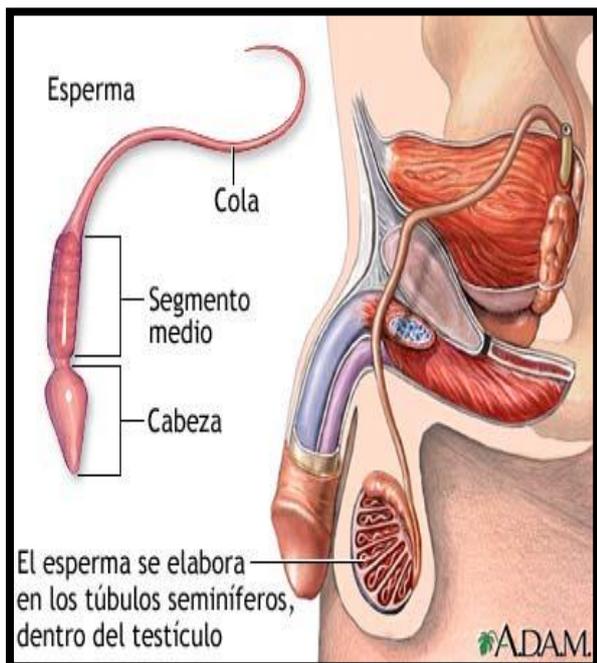
Fuente: Instalaciones del C.I.C.F.Tungurahua

BODEGA DEL LABORATORIO DE BIOLOGIA DEL CICFT



Fuente: Instalaciones del C.I.C.F.Tungurahua

FORMACIÓN DEL LÍQUIDO SEMINAL



Fuente: <http://www.aebm.org>

MUESTRA DE LÍQUIDO SEMINAL



Fuente: <http://revistamundoforens.com>

ROTULADO FORENSE

LABIOL 193
PUYO, PASTAZA
P₅ Corte de 0,5x0,5 de interior blanco de la zona mariposa.

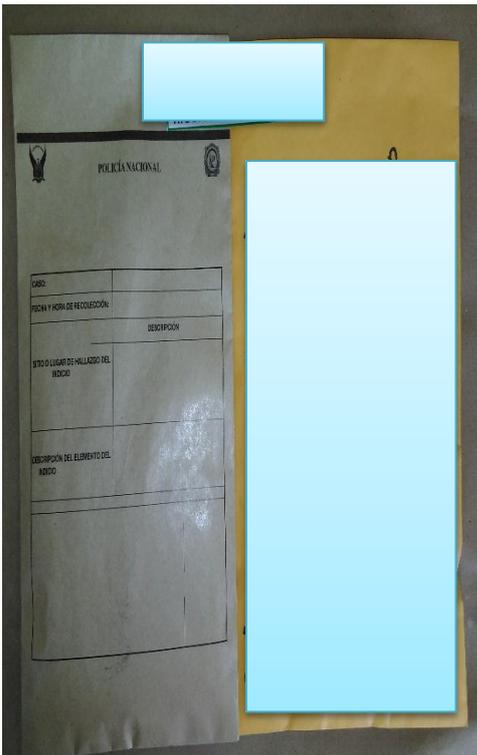
Fuente: (MORENO, y otros, 2012)

MATERIALES TOMA DE MUESTRAS BIOLÓGICAS



Fuente: <https://www.google.com.ec/search?q=materiales>

RECEPCIÓN Y ETIQUETADO DE LAS EVIDENCIAS



Fuente: Análisis realizado en el C.I.C.F.T. Lab. Biología

PREPARACIÓN DEL MATERIAL PARA EL ANÁLISIS



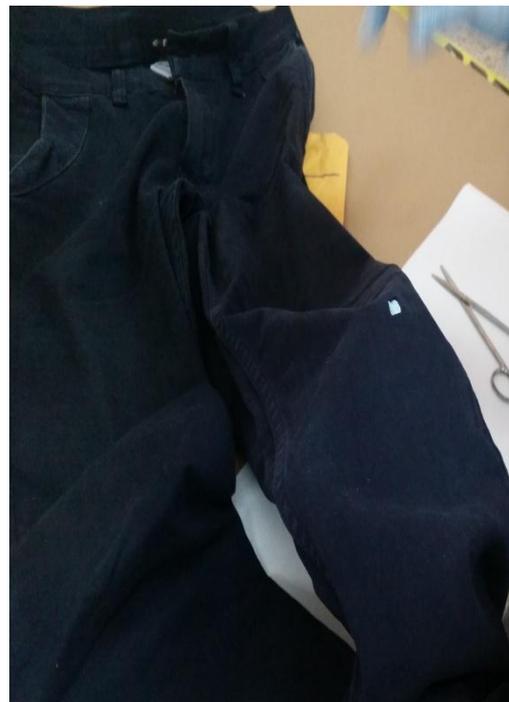
Fuente: Análisis realizado en el C.I.C.F.T. Lab. Biología

PRENDAS EVIDENCIAS



Fuente: Análisis realizado en el C.I.C.F.T. Lab. Biología

PRENDAS EVIDENCIAS



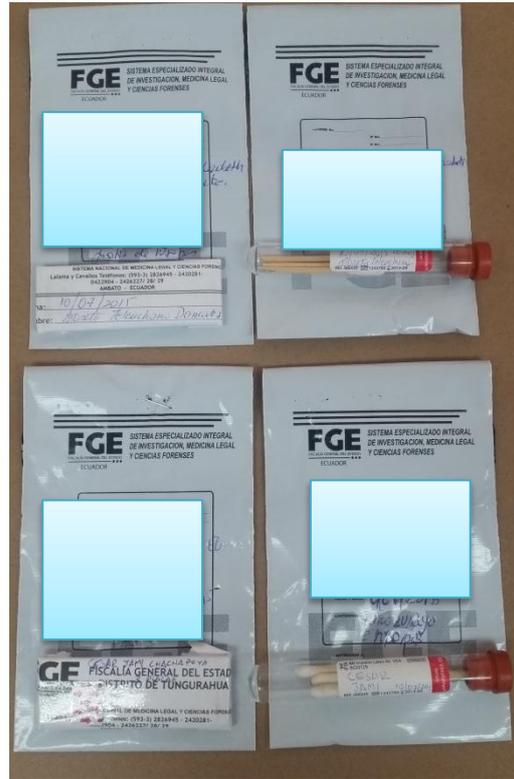
Fuente: Análisis realizado en el C.I.C.F.T. Lab. Biología

PRENDAS EVIDENCIAS



Fuente: Análisis realizado en el C.I.C.F.T. Lab. Biología

HISOPOS EVIDENCIAS



Fuente: Análisis realizado en el C.I.C.F.T. Lab. Biología

HISOPOS EVIDENCIAS



Fuente: Análisis realizado en el C.I.C.F.T. Lab. Biología

HISOPOS EVIDENCIAS



Fuente: Análisis realizado en el C.I.C.F.T. Lab. Biología

PRESERVATIVO EVIDENCIA



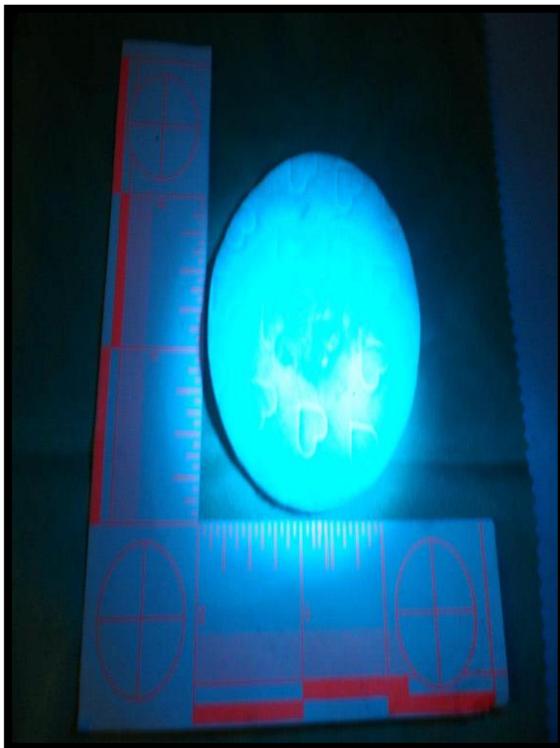
Fuente: C.I.C.F-Tungurahua Lab. de Biología

KIT DE ANÁLISIS DE PROTEÍNA P-3



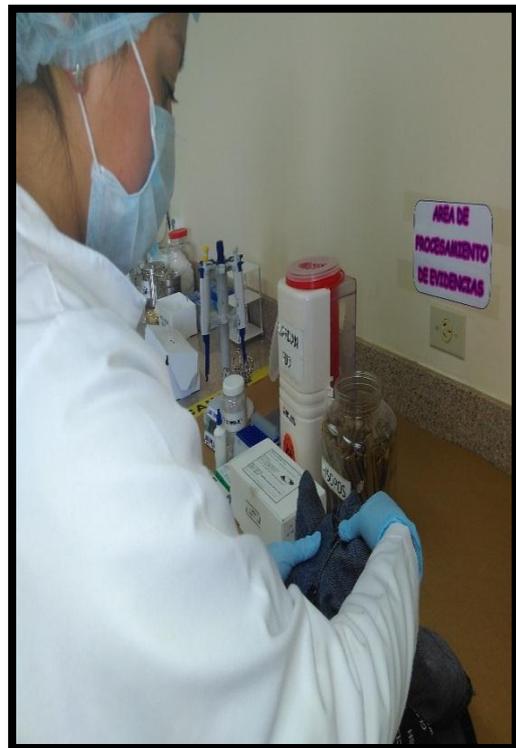
Fuente: Análisis realizado en el C.I.C.F.T. Lab. Biología

IDENTIFICACIÓN DE MÁCULAS DE SEMEN



Fuente: Análisis realizado en el C.I.C.F.T. Lab. Biología

IDENTIFICACIÓN DE MÁCULAS DE SEMEN



Fuente: Análisis realizado en el C.I.C.F.T. Lab. Biología

REALIZACIÓN DE LOS CORTES EN LAS REGIONES DONDE SE HALLAN LAS MÁCULAS



Fuente: Análisis realizado en el C.I.C.F.T. Lab. Biología

MEDICIÓN DEL TAMAÑO DE LOS CORTES



Fuente: Análisis realizado en el C.I.C.F.T. Lab. Biología

COLOCACIÓN DE LOS CORTES EN LOS TUBOS EPPENDORFF



Fuente: Análisis realizado en el C.I.C.F.T. Lab. Biología

ROTULACIÓN DE LOS TUBOS EPPENDORFF



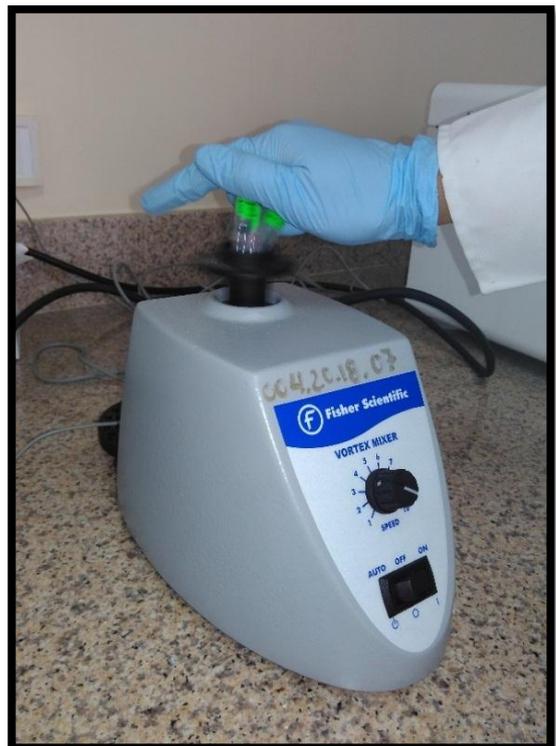
Fuente: Análisis realizado en el C.I.C.F.T. Lab. Biología

COLOCACIÓN DEL BUFFER DE PROTEÍNA P30



Fuente: Análisis realizado en el C.I.C.F.T. Lab. Biología

VORTEXEO DE LOS TUBOS EPPENDORFF CON EL BUFFER



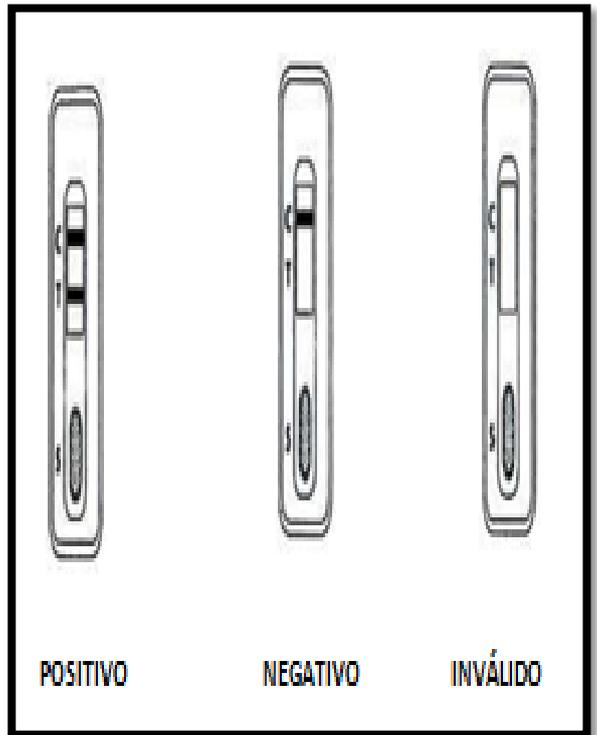
Fuente: Análisis realizado en el C.I.C.F.T. Lab. Biología

REFRIGERACIÓN DE LOS TUBOS EPPENDORFF CON EL BUFFER



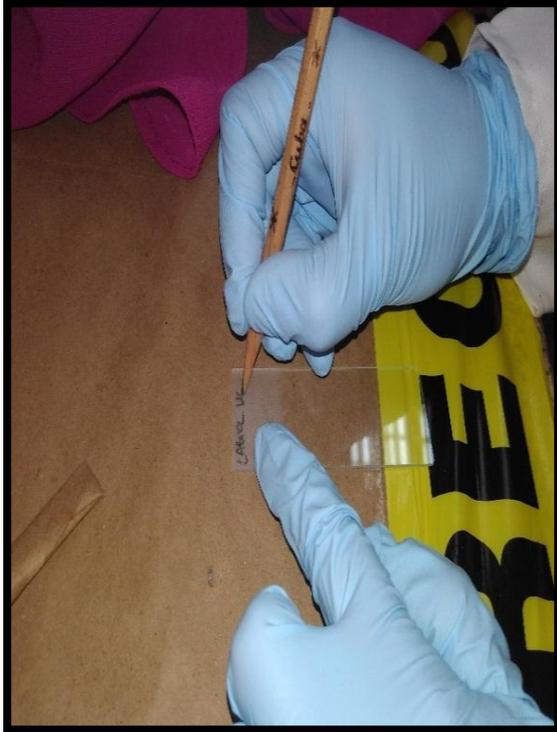
Fuente: Análisis realizado en el C.I.C.F.T. Lab. Biología

CASSETE DE ABACARD PARA IDENTIFICAR PROTEÍNA P-30



Fuente: <http://www.dczogbi.com/placas.html>

ROTULAMIENTO DE LAS PLACAS PARA RASTREO DE ESPERMATOZOIDES



Fuente: Análisis realizado en el C.I.C.F.T. Lab. Biología

HUMEDECIMIENTO DEL HISOPO PARA REALIZAR EL FROTIS



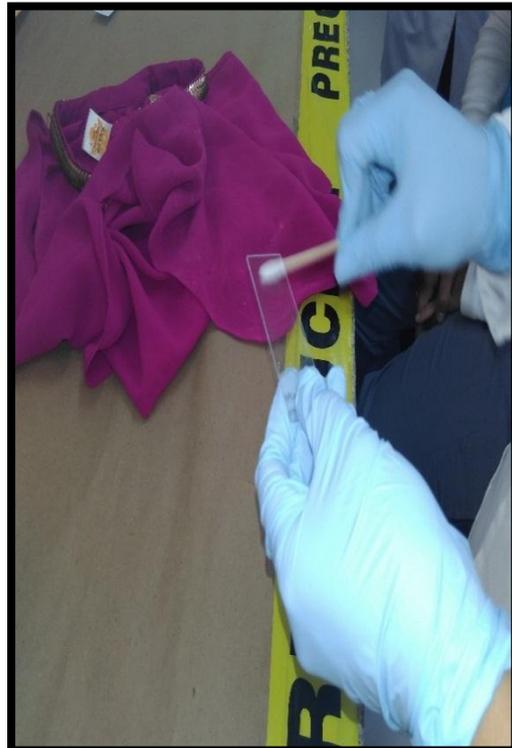
Fuente: Análisis realizado en el C.I.C.F.T. Lab. Biología

TOMA DE MUESTRA DE SEMEN DE LA PRENDA



Fuente: Análisis realizado en el C.I.C.F.T. Lab. Biología

EXTENDIDO DE LA MUESTRA EN LA PLACA



Fuente: Análisis realizado en el C.I.C.F.T. Lab. Biología

REACTIVOS DE LA TINCIÓN DE ÀRBOL DE NAVIDAD



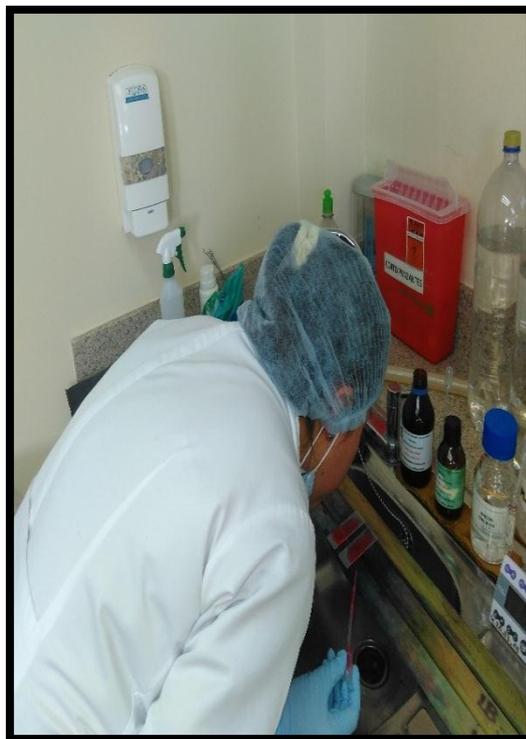
Fuente: C.I.C.F-Tungurahua Lab. de Biología

FIJACIÓN DE LA PLACA CON MUESTRA



Fuente: Análisis realizado en el C.I.C.F.T. Lab. Biología

TINCIÓN DE LA PLACA CON REACTIVO KERNECHTROT



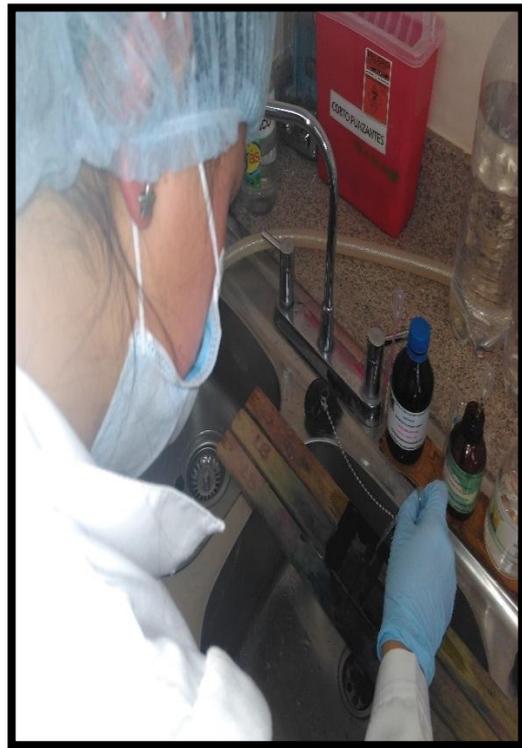
Fuente: Análisis realizado en el C.I.C.F.T. Lab. Biología

LAVADO DE LAS PLACAS DEL REACTIVO DE KERNECHTROT



Fuente: Análisis realizado en el C.I.C.F.T. Lab. Biología

TINCIÓN DE LAS PLACAS CON REACTIVO PICROINDIGOCARMININE



Fuente: Análisis realizado en el C.I.C.F.T. Lab. Biología

ACLARAMIENTO DE LAS PLACAS CON ETANOL



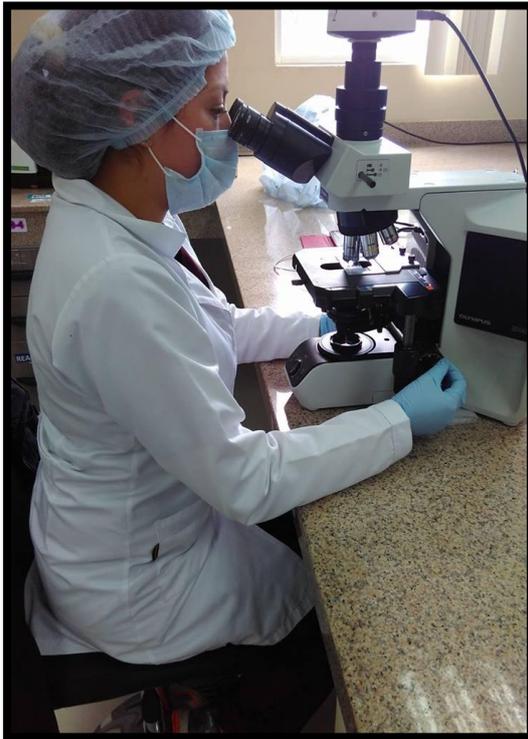
Fuente: Análisis realizado en el C.I.C.F.T. Lab. Biología

MONTAJE DE LAS PLACAS CON PERMONT

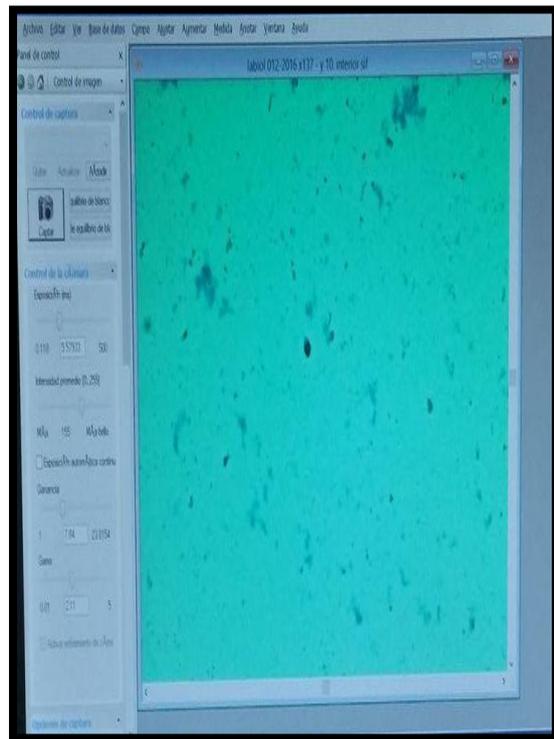


Fuente: Análisis realizado en el C.I.C.F.T. Lab. Biología

OBSERVACIÓN DE ESPERMATOZOIDES



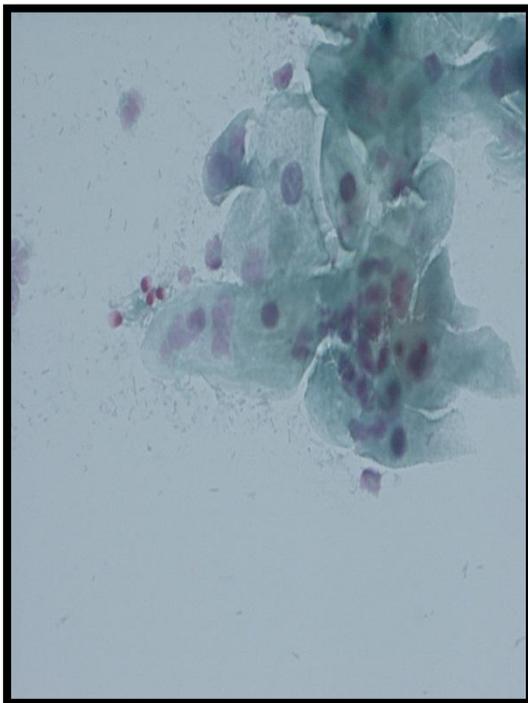
SISTEMA DE CAPTURA DE IMÁGENES MICROSCÓPICAS



Fuente: Análisis realizado en el C.I.C.F.T. Lab. Biología

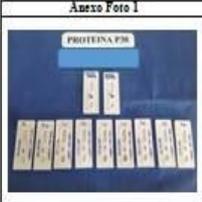
Fuente: Análisis realizado en el C.I.C.F.T. Lab. Biología

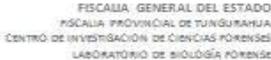
OBSERVACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE CABEZAS DE ESPERMATOZOIDES



Fuente: Análisis realizado en el C.I.C.F.T. Lab. Biología

MODELO DE INFORME PERICIAL

 <p>FISCALÍA GENERAL DEL ESTADO FISCALÍA PROVINCIAL DE TUNGURAHUA CENTRO DE INVESTIGACIÓN DE CIENCIAS FORENSES LABORATORIO DE BIOLÓGIA FORENSE</p>	 <p>FISCALÍA GENERAL DEL ESTADO FISCALÍA PROVINCIAL DE TUNGURAHUA CENTRO DE INVESTIGACIÓN DE CIENCIAS FORENSES LABORATORIO DE BIOLÓGIA FORENSE</p>
INFORME BIOLÓGICO FORENSE	
<p>El perito del Laboratorio de Biología del Centro de Investigación Forense de Tungurahua emite mediante Oficio No., dentro de la Investigación Previa No. el siguiente informe pericial:</p>	
INFORMACION GENERAL	
Código:	
Entidad y Autoridad solicitante:	
Evidencias Analizadas:	
Responsable de la entrega de la evidencia:	
Fecha de recepción de evidencias:	
Objetivo (s):	<input checked="" type="checkbox"/> Determinación de Proteína P30 <input checked="" type="checkbox"/> Rastreo de Espermatozoides
Fecha entrega del informe:	
<p>1.-DESCRIPCIÓN DE LAS EVIDENCIAS:</p> <p>2. METODOLOGÍA</p> <p>a) PRINCIPIO DE LA PRUEBA PARA LA INVESTIGACIÓN DE LA PROTEÍNA P30:</p> <p>Esta prueba se basa en la detección cualitativa de la proteína "p30" para la identificación de líquido seminal. La proteína "p30" es un marcador aceptado para la detección de líquido seminal en casos donde se sospecha abuso sexual, es detectable también en individuos vasectomizados o asoospermicos.</p> <p>La presencia de la proteína "p30" se detecta mediante la técnica de inmunocromatografía de ABAcad® de la Casa Comercial Abaccus Diagnostica.</p>	
<p>Se analizaron las evidencias con la técnica de inmunocromatografía de ABAcad® de la Casa Comercial Abaccus Diagnostica para la detección cualitativa de la proteína "p30".</p> <p>Se utilizaron controles positivos y negativos para validar la prueba.</p> <p>RESULTADO DE LA INVESTIGACION DE LA PROTEINA p30:</p> <p>- Evidencia No. 1 (.....) <u>SE DETECTO LA PRESENCIA DE PROTEINA P30 (POSITIVO).</u></p> <p>(Ver anexo foto1)</p> <div style="text-align: center;">  <p>Anexo Foto 1</p> </div> <p>b) PRINCIPIO DE LA COLORACIÓN CHRISTMAS TREE PARA LA INVESTIGACIÓN DE ESPERMATOZOIDES:</p> <p>La identificación de espermatozoides se realizó utilizando la tinción Christmas Tree o técnica de Kerckhoff picro-indigo-carmin, coloración biológica diferencial de las partes de las que se compone un espermatozoide, el material nuclear se tiñe de color rojo o rojo púrpura, el cuerpo de los espermatozoides se observan de forma ovalada y teñido de rojo con un fondo rosado ligero, el acrosoma del espermatozoide se tiñe de color rojo ligero, la región media y la cola de los espermatozoides se tiñen de color verde o azul verdoso. (Campbell RJ Dept. de Ciencias Forenses, Sección de Biología Forense Virginia).</p> <p>RESULTADO DE LA INVESTIGACIÓN DE ESPERMATOZOIDES:</p>	

 <p>FISCALÍA GENERAL DEL ESTADO FISCALÍA PROVINCIAL DE TUNGURAHUA CENTRO DE INVESTIGACIÓN DE CIENCIAS FORENSES LABORATORIO DE BIOLÓGIA FORENSE</p>	 <p>FISCALÍA GENERAL DEL ESTADO FISCALÍA PROVINCIAL DE TUNGURAHUA CENTRO DE INVESTIGACIÓN DE CIENCIAS FORENSES LABORATORIO DE BIOLÓGIA FORENSE</p>
<p>- Evidencia No. 4(.....) <u>PRESENCIA DE CABEZAS DE ESPERMATOZOIDES (POSITIVO).</u> (Ver anexo foto2)</p>	
<div style="text-align: center;">  <p>Anexo Foto 2</p> </div>	
<p>Es todo cuanto puedo informar en honor a la verdad.</p> <p>Atentamente:</p> <p>_____</p> <p>XXXXXXXXXX</p> <p>No. Acreditación: XXXXX</p> <p>Perito Acreditado por el Consejo de la Judicatura de Tungurahua</p>	

Fuente: C.I.C.F.T. Lab. de Biología