



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E
HISTOPATOLÓGICO**

TESINA DE GRADO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

**LICENCIADOS EN LABORATORIO CLÍNICO E
HISTOPATOLÓGICO**

TEMA

**“ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE LA DETERMINACIÓN DE PSA
TOTAL Y P30 PARA LA VALORACIÓN DE LÍQUIDO SEMINAL EN
CASOS FORENSES DURANTE EL PERIODO OCTUBRE 2015 - MARZO
2016 EN EL CENTRO DE INVESTIGACIÓN DE CIENCIAS FORENSES DE
LA CIUDAD DE AMBATO”**

AUTORES:

Brayan Alexander Cortez Valdivieso

Katheryn Lizeth Logroño Ruiz

TUTORA:

Lic. Verónica Cáceres

RIOBAMBA – ECUADOR

2016



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO

FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO

TESINA DE GRADO PREVIO A LA OBTENCIÓN DE TÍTULO DE LICENCIADOS DE LA SALUD EN LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO.

TEMA:

“ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE LA DETERMINACIÓN DE PSA TOTAL Y P30 PARA LA VALORACIÓN DE LÍQUIDO SEMINAL EN CASOS FORENSES DURANTE EL PERIODO OCTUBRE 2015 – MARZO 2016 EN EL CENTRO DE INVESTIGACIÓN DE CIENCIAS FORENSES DE LA CIUDAD DE AMBATO”

PRESENTADA Y APROBADA ANTE EL TRIBUNAL

CONFORMADO POR:

Lic. Verónica Cáceres
Miembro del Tribunal

Lic. Mercedes Balladares
Presidente del Tribunal

MsC. Mary Alvear
Miembro del Tribunal

ACEPTACION DEL TUTOR(A)

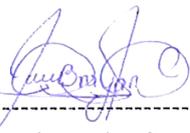
Por la presente, hago constar que he leído el protocolo del proyecto de grado presentado por los señores **BRAYAN ALEXANDER CORTEZ VALDIVIESO Y KATHERYN LIZETH LOGROÑO RUIZ** para optar al título de Licenciados en Laboratorio Clínico e Histopatológico y que acepto asesorar a los estudiantes en calidad de tutora, a los ejecutores de la investigación durante la etapa del desarrollo del trabajo hasta su presentación y evaluación.



Lic. Verónica Cáceres M.

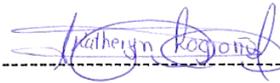
DERECHOS DE AUTORÍA

Nosotros BRAYAN ALEXANDER CORTEZ VALDIVIESO y KATHERYN LIZETH LOGROÑO RUIZ somos responsables de todo el contenido de este trabajo investigativo, los derechos de autoría pertenecen a la Universidad Nacional de Chimborazo.



Brayan Alexander Cortez Valdivieso

C.I 060412373-7



Katheryn Lizeth Logroño Ruiz

C.I. 060465984-7

DEDICATORIA

Con afecto dedico este trabajo a mis venerados padres, porque me dieron la vida y me guían con paciencia por el camino del bien: velando por mi formación personal y apoyándome de manera incondicional hasta culminar esta carrera.

Brayan Alexander Cortez Valdivieso

DEDICATORIA

Al culminar mis estudios dedico este trabajo de investigación a mis padres por ser mi firme y decidido apoyo durante todo el transitar de mi existencia y la perenne motivación para mi superación personal.

Katheryn Lixeth Logroño Ruiz

AGRADECIMIENTO

Presentamos nuestro reconocimiento a la Universidad Nacional de Chimborazo digna institución formadora de insignes profesionales, en cuyas aulas forjamos con entusiasmo nuestro porvenir, estudiando con esmero cada día lo indispensable para la profesión elegida pero sobre afianzamos valores humanos que guiaran nuestro accionar cotidiano y permitirán servir con gran seguridad a la colectividad, nuestra eterna gratitud a los docentes de la Alma Mater Chimboracense quienes con sus capacidades y conocimientos nos han brindado una sólida formación competitiva apoyando nuestro crecimiento personal; para proyectarnos a la sociedad.

Bryan y Kathryn

RESUMEN

La violencia sexual es un problema de salud pública y de justicia social. La inmediata actuación médico legal, la exploración física general y la buena colecta de indicios, son fundamentales para el diagnóstico certero por el laboratorio forense. Se evaluó durante Octubre 2015 a Marzo 2016 en casos forenses en el Centro de Investigación de Ciencias Forenses de la ciudad de Ambato por Medicina Forense y el Laboratorio. Se aplicaron 2 métodos de alta sensibilidad y especificidad para la búsqueda de semen: Proteína (P30), y Antígeno Prostático Específico (PSA), el mismo que es un marcador específico del varón. La gran mayoría correspondieron a delitos de violación y homicidio (91%). Se detectó presencia de semen en el 60% de las víctimas: P30 (65%), PSA (35%). El estudio de manchas de líquido seminal constituye una prueba precisa y útil en la resolución de casos asociados a delitos. Las dos técnicas empleadas en el laboratorio forense son de gran validez; La prueba (PSA) es una de las más conocidas y utilizadas para la identificación del semen, se basa en la presencia de niveles altos de fosfatasa de origen prostático. Mientras que la prueba P30 está diseñada para la detección cualitativa de la proteína P30 en la identificación del semen porque constituye un marcador aceptado para la detección de líquido seminal, esta técnica es más específica en casos forenses porque indica en forma contundente que el fluido corporal es elemento de identificación humana, para eliminar sospechosos.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD, CULTURA FÍSICA Y TURISMO
CENTRO DE IDIOMAS

ABSTRACT

Sexual violence is a problem of public health and social justice. The immediate legal medical action, the general physical examination and the correct collection of evidence, are essential for the accurate diagnosis by the forensic laboratory. This was assessed from October 2015 to March 2016 in forensic cases in the Research Center of Forensic Sciences from Ambato city by Forensic Medicine and laboratory. It was applied two methods of high sensitivity and specificity for the search of semen: protein (P30), and prostate-specific antigen (PSA), the same that is a specific marker of the man. The vast majority were crimes of rape and homicide (91%). The presence of semen was detected in 60% of the victims: P30 (65%), PSA (35%). The study of traces of seminal fluid is a test accurate and useful in the resolution of cases associated with crimes. The two techniques employed in the forensic laboratory are validity; the test (PSA) is one of the most well-known and used for the identification of semen, it is based on the presence of high levels of Phosphatase Prostatic origin. While the test P30 is designed for the detention of the protein P qualitative³⁰ in the identification of semen because it constitutes a signal accepted for the detention of seminal fluid, this technique is more specific in forensic cases because it strongly suggests that the body fluid is an element of human identification, eliminating suspects.

Reviewed:

Lic. Mónica Castillo
ENGLISH TEACHER



INDICE GENERAL

PORTADA.....	I
CONTRAPORTADA.....	II
ACEPTACIÓN DEL TUTOR (A).....	III
DERECHO DE AUTORÍA.....	IV
DEDICATORIA.....	V
AGRADECIMIENTO.....	VI
RESUMEN.....	VII
ABSTRACT.....	VIII
INDICE GENERAL.....	IX
INDICE DE CUADROS.....	XIII
INDICE DE GRÁFICOS.....	XIII
INDICE DE IMÁGENES.....	XIII
INDICE DE FIGURAS.....	XIV
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I	3
1 MARCO REFERENCIAL.....	3
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	6
1.3 OBJETIVOS.....	6
1.3.1 OBJETIVO GENERAL.....	6
1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	6
1.4 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA.....	6
CAPÍTULO II	8
2. MARCO TEÓRICO.....	8
2.1 POSICIONAMIENTO PERSONAL.....	8
2.2 FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	8

2.2.1 Sistema Reproductor Masculino.....	8
2.2.2 Próstata.....	9
2.2.2.1 Definición.....	9
2.2.3 Espermatogénesis.....	10
2.2.3.1 Tiempo de vida de los espermatozoides.....	12
2.2.4 Qué es el PSA.....	12
2.2.4.1 Definición.....	12
2.2.5 Técnica PSA Semiquant.....	13
2.2.6 Procedimiento del test.....	19
2.2.7 Control de Calidad.....	22
2.2.8 Qué es la Proteína P30.....	23
2.2.8.1 Definición.....	23
2.2.9 Técnica de la proteína P30.....	24
2.2.10 Procedimiento.....	26
2.2.11 Control de Calidad.....	29
2.2.12 Comparación entre técnicas de PSA y proteína P30.....	31
2.2.13 Análisis comparativo entre técnicas de PSA y Proteína P30.....	31
2.2.14 Identificación de las técnicas empleadas.....	33
2.2.14.1 Inmunoensayo.....	33
2.2.14.2 Pruebas Inmunocromatográficas.....	35
2.2.15 Tipo de reacción producida en las técnicas.....	35
2.2.16Cuál de las dos técnicas es más específica.....	38
2.2.17 El Laboratorio Forense.....	38
2.2.17.1 Definición.....	38
2.2.18 Laboratorios forenses en el Ecuador.....	40
2.2.19 Centro de investigación de Ciencias Forenses de la ciudad de Ambato.....	41
2.2.20 Clases de laboratorio forense.....	46
2.2.21 Laboratorio de Biología del centro forense de la ciudad de Ambato.....	54
2.2.22 Características.....	56
2.2.23 Importancia.....	56
2.2.24 El rol de los Laboratorio Forenses en los procesos judiciales.....	58

2.2.25 Levantamiento y Embalaje de los Indicios.....	59
2.2.25.1 Levantamiento.....	59
2.2.25.2 Embalaje.....	61
2.2.26 Cadena de Custodia.....	71
2.2.26.1 Concepto de cadena de custodia.....	71
2.2.27 Objetivo.....	71
2.2.28 Responsabilidad.....	71
2.2.29 Elementos de la cadena de custodia.....	72
2.2.30 Casos en los que se requiere cadena de custodia.....	72
2.2.31 Registro.....	72
2.2.32 Etapas o pasos.....	73
2.2.33 Mecanismos para acreditar.....	73
2.2.34 Responsables de la cadena de custodia.....	74
2.2.35 Criterios que inciden en la cadena de custodia.....	78
2.2.36 Protocolo para la Obtención de Muestras.....	80
2.2.36.1 Rotulación.....	80
2.2.36.2 Obtención de la muestra.....	81
2.2.36.3 Preparación de la muestra.....	82
2.2.37 Traslado interno de muestras.....	83
2.3 DEFINICIONES DE TÉRMINOS BÁSICOS.....	84
2.4 HIPÓTESIS.....	87
2.5 VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN.....	87
2.5.1 Variable Independiente.....	87
2.5.2 Variable Dependiente.....	87
2.6 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.....	87
CAPÍTULO III	88
3 METODOLOGÍA.....	88
3.1 Método Científico.....	88
3.2 Tipo de investigación.....	88
3.3 Tipo de estudio.....	88

3.4 POBLACIÓN y MUESTRA.....	89
3.4.1 Población.....	89
3.4.2 Muestra.....	89
3.5 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS...89	
3.6 TÉCNICAS PARA EL PROCESO Y ANÁLISIS DE DATOS.....89	
3.7 COMPROBACIÓN DE HIPÓTESIS.....98	
CAPÍTULO IV	99
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	99
CONCLUSIONES.....	99
RECOMENDACIONES.....	99
Bibliografía.....	100
Anexos.....	103

INDICE DE CUADROS

Cuadro N° 1 Pruebas con “PSA”	93
Cuadro N° 2 Pruebas con “Proteína P30”	94
Cuadro N° 3 Pruebas con “P30 - PSA” Positivo.....	95
Cuadro N° 4 Pruebas con “P30 - PSA” Negativo.....	96
Cuadro N° 5 Ciudades con mayor incidencia de casos.....	97

INDICE DE GRÁFICOS

Gráfico N° 1 Pruebas con “PSA”	93
Gráfico N° 2 Pruebas con “Proteína P30”	94
Gráfico N° 3 Pruebas con “P30 - PSA” Positivo.....	95
Gráfico N° 4 Pruebas con “P30 - PSA” Negativo.....	96
Gráfico N° 5 Ciudades con mayor incidencia de casos.....	97

ÍNDICE DE IMÁGENES

Imagen 1 Lectura del test (P30).....	28
Imagen 2 Resultado inválido.....	29
Imagen 3 FGE Centro Forense de Ambato.....	42
Imagen 4 Parte lateral del Centro Forense de Ambato.....	42
Imagen 5 Exteriores del Centro Forense de Ambato.....	43
Imagen 6 Recepción.....	44
Imagen 7 Oficinas del Centro Forense.....	44
Imagen 8 Ingreso al área de oficinas.....	45
Imagen 9 Departamentos del Centro Forense.....	45
Imagen 10 Pasillo (Centro de datos).....	46
Imagen 11 Laboratorio de Química Forense.....	47
Imagen 12 Instrumentos (Gases).....	47

Imagen 13 Aplicación de muestras.....	48
Imagen 14 Cámara de flujo.....	48
Imagen 15 Laboratorio de Biología Forense.....	49
Imagen 16 Almacenaje de muestras.....	49
Imagen 17 Laboratorio de Histopatología Forense.....	50
Imagen 18 Ejemplares de muestras.....	51
Imagen 19 Micrótopo.....	51
Imagen 20 Laboratorio de Tanatología.....	52
Imagen 21 Muestras almacenadas.....	53
Imagen 22 Cuarto frío.....	53
Imagen 23 Laboratorio para extracción de muestras (Tanatología).....	54
Imagen 24 Conservación y embalaje de evidencias.....	61
Imagen 25 Registros y resultados.....	79
Imagen 26 Registros y archivos.....	80
Imagen 27 Muestras (Indicios).....	82

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Sistema Reproductor Masculino.....	8
Figura 2. Próstata.....	9
Figura 3. Espermatogenesis.....	11
Figura 4. Cassette de prueba (PSA).....	20
Figura 5. Resultado Negativo (PSA).....	21
Figura 6. Resultado Positivo (PSA).....	21
Figura 7. Resultados inválidos (PSA).....	22
Figura 8. Tipos de Resultados (P30).....	27
Figura 9. Levantamiento de indicios.....	59
Figura 10. Embalaje de indicios.....	63
Figura 11. Materiales para el embalaje.....	63
Figura 12. Tipos de indicios.....	69

Figura 13. Embalaje.....	70
Figura 14. Policía Judicial.....	75

INTRODUCCIÓN

La violencia sexual es uno de los problemas más graves de salud pública, de justicia social y derechos humanos, sexuales y reproductivos. En América Latina se la define como la realización de todo acto sexual sin consentimiento ni deseo por parte de la víctima. Implica el uso de la fuerza y produce graves consecuencias físicas, psicológicas y sociales

La prueba (PSA) es una de las más conocidas y utilizadas para la identificación del semen, aparte de la tinción de células espermáticas y la prueba P30 está diseñada para la detección cualitativa de la proteína P30 en la identificación de semen. El P30 es un marcador aceptado para la detección de líquido seminal en casos criminales incluyendo individuos vasectomizados o azoospermicos. Esta técnica P30 es más específica porque la proteína P30 es un antígeno prostático específico y su presencia indica en forma contundente que es semen humano. En los delitos sexuales este fluido corporal es elemento de identificación humana. También se utiliza para eliminar sospechosos.

Menos de 10% del volumen del semen de una eyaculación corresponde a los espermatozoides, y más de 90% al líquido seminal.

El **líquido seminal** es una sustancia secretada por el aparato reproductor masculino. Esta sustancia contiene los espermatozoides o gametos masculinos que tienen como objetivo fecundar el óvulo de la mujer. El líquido seminal es una mezcla de varios fluidos. Los espermatozoides permanecen vivos en esta mezcla durante un período corto. El estudio del líquido seminal 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, actos lascivos, 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.

El presente trabajo investigativo está estructurado en capítulos; en el capítulo I se encuentra la problematización con el planteamiento y formulación del problema, se establecieron los objetivos de la investigación, se presenta la justificación. El capítulo II comprende el Marco Teórico constituido por el posicionamiento teórico personal, la fundamentación teórica, la definición de términos básicos, complementado con el planteamiento de la hipótesis las variables y su operacionalización, en el capítulo III se fundamenta nuestra investigación demostrando en tablas estadísticas, representaciones gráficas e interpretación de resultados lo que nos permite comprobar la hipótesis en los resultados comparativos entre la determinación de PSA total y proteína p30 para la valoración de líquido seminal en casos forenses en el Centro de Investigación de Ciencias Forenses de la ciudad de Ambato en 88 casos.

CAPÍTULO I

1 MARCO REFERENCIAL

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

A nivel mundial la violencia sexual es un problema de salud y de justicia social, la inmediata actuación médico legal, la buena colecta de indicios son fundamentales para el diagnóstico certero por el laboratorio forense.

La prueba (PSA) es una de las más conocidas y utilizadas para la identificación del semen, aparte de la tinción de células espermáticas

La prueba P30 está diseñada para la detección cualitativa de la proteína P30 en la identificación de semen. El P30 es un marcador aceptado para la detección de líquido seminal en casos criminales incluyendo individuos vasectomizados o azoospermicos. Esta técnica P30 es más específica porque la proteína P30 es un antígeno prostático específico y su presencia indica en forma contundente que es semen humano. En los delitos sexuales este fluido corporal es elemento de identificación humana. También se utiliza para eliminar sospechosos. (MONTIEL, 2010)

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, actos lascivos, 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.

Las primeras pruebas utilizadas en el análisis de manchas de semen fueron organolépticas y algunas reacciones químicas, sin embargo, estas pruebas daban resultados similares en sustancias como el moco y la grasa cruda de origen animal, cuyas apariencias sobre tela son similares a la del semen.

Las víctimas que asistieron a Medicina Forense del Centro de Investigaciones de ciencias Forenses de la ciudad de Ambato provienen de diferentes entornos sociales

y económicos. Sólo 2 de cada 100 mujeres que denuncian violencia sexual llegan a juicio y de éstos, el 80% queda en la impunidad. Las consecuencias de una agresión sexual pueden ser: el embarazo como producto de la violación, infecciones de transmisión sexual, virus de VIH, por lo tanto las víctimas deben ser atendidas prontamente. (VILLALAÍN, 1975)

El estudio de las manchas de líquido seminal constituye una prueba precisa y útil en la resolución de casos asociados a delitos que afectan las buenas costumbres y el buen orden de las familias. Existen en el semen una serie de sustancias que ayudan al investigador criminalista a presumir o confirmar la presencia de manchas de éste fluido en el sitio del suceso, víctima(s) y/o victimario(s). Entre los métodos de reconocimiento, identificación e individualización del semen tenemos: la ubicación de las manchas con diferentes fuentes de luz, identificación de la muestra mediante la aplicación de los ensayos cristalográficos (Florence y Barberio), la búsqueda de células espermáticas con diferentes métodos de tinción, detección del núcleo del espermatozoide humano por inmunofluorescencia, detección de la enzima fosfatasa ácida prostática por reacción enzimática y detección del antígeno prostático (PSA) y la proteína P30 mediante la técnica (P30). En cuanto a la individualización de manchas de semen, en la actualidad están disponibles una serie de reactivos para la maceración, además una gama muy amplia de kits que permiten la amplificación y posterior secuenciación de fragmentos de su material genético.

En Latinoamérica se establece que corresponde al Ministerio Público dirigir la investigación de los delitos y promover la acción penal pública ante los órganos jurisdiccionales. En consideración a lo anterior se hace necesario que los órganos de procuración de justicia en Ecuador tengan herramientas suficientes para el estudio científico de la investigación de los delitos sexuales. (AVENDAÑO, 2012)

En el Ecuador La violencia sexual es un problema de salud pública y de justicia social. La inmediata actuación médico legal, la exploración física general y la buena colecta de indicios, son fundamentales para el diagnóstico certero por el laboratorio forense. Análisis científicos hechos por especialistas acreditados y con equipos de

alta tecnología son pruebas irrefutables que evitan especulaciones en los procesos penales.

Para estos estudios se han habilitado seis Centros Forenses en provincias como Santo Domingo, Ambato, Manta, Loja, Machala y Nueva Loja, que junto al de Esmeraldas y otro que será inaugurado en Cuenca (sur andino), completan la red de ocho CICF a nivel nacional.

Estos centros están ubicados estratégicamente en las provincias de mayor incidencia delictiva. Cuentan con infraestructura acorde a las necesidades y equipos tecnológicos modernos. La inversión total en los ocho Centros Forenses es de 25,9 millones de dólares con el objetivo de lograr una investigación científica del delito.

En el Centro de investigación de Ciencias Forenses de la ciudad de Ambato, lugar donde se evaluó durante Octubre 2015 a Marzo 2016 víctimas de violencia sexual. Los delitos de violencia sexual en los últimos años han tenido un incremento alarmante, principalmente la violación. En el lugar de los hechos adquieren vital importancia por la información que pueden brindar en la investigación en especial cuando este delito se consuma sin testigos, por ejemplo en víctimas sometidas a sustancias que producen estado de indefensión como las benzodiazepinas, la cocaína y el alcohol. El hallazgo del fluido seminal en los indicios colectados por Medicina Forense, adquiere un gran valor en la prueba material. La presencia de semen en la vagina, las prendas, en otras regiones del cuerpo de la víctima, brinda valiosa información para la investigación del delito y permitir el establecer la participación de los autores. La pesquisa del semen por el Laboratorio Forense es importantísima en la investigación de los delitos sexuales como la Violación. El fluido seminal puede estar impregnado en una prenda, mezclado con sangre, secreción vaginal u otros fluidos corporales de la víctima. Las pruebas de laboratorio comprenden una gama de alternativas, pero las más eficaces son la detección de espermatozoides, la actividad de la fosfatasa acida prostética, el Antígeno Prostético Especifico. (DIGNIA, 2012)

1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Cuál es la importancia del estudio comparativo entre la determinación de PSA total y P30 para la valoración de líquido seminal en casos forenses durante el periodo Octubre 2015-Marzo 2016 en el Centro de Investigación de Ciencias Forenses de la ciudad de Ambato?

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar el PSA total y P30 para la valoración de líquido seminal en casos forenses durante el periodo Octubre 2015 - Marzo 2016 en el Centro de Investigación de Ciencias Forenses de la ciudad de Ambato

1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analizar que técnica (PSA Total o Proteína P30) es más específica para la valoración de líquido seminal con el estudio en el laboratorio forense.
- Reconocer la importancia de la técnica de PSA Total y Proteína P30 para análisis forense.
- Interpretar los resultados obtenidos de los casos estudiados en el Centro de Investigación de Ciencias Forenses de la ciudad de Ambato

1.4 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA

Se realiza esta labor investigativa para plantear alternativas de solución al problema y como una contribución a la sociedad. En los últimos tiempos, se está desarrollando una corriente que lleva a la Calidad Total en los Laboratorios Clínicos y forenses. Una parte esencial de esta calidad radica en la mejora de la fase de toma y análisis de muestras, funciones fundamentales de los especialistas de Laboratorio.

Este trabajo de investigación constituye un mecanismo de gran importancia para plantear un análisis comparativo entre dos, para el estudio de casos en el Centro de Investigación de ciencias forenses de la ciudad de Ambato.

El contenido es relevante porque permite validar el estudio comparativo entre la determinación de PSA total y P30 para la valoración de líquido seminal en casos forenses durante el periodo Octubre 2015 - Marzo 2016 en el Centro de Investigación de Ciencias Forenses de la ciudad de Ambato, facilitando el proceso legal correspondiente.

En el contexto el tema tiene pertinencia puesto que en este centro de investigación no se ha realizado un análisis referente a lo tratado en el presente trabajo, por lo tanto es indispensable tratar esta temática con precisión para proporcionar nuevos conocimientos y encaminar el proceso de análisis de muestras en el laboratorio clínico hacia el mejoramiento continuo que beneficie a las víctimas que acuden al centro investigativo en donde se realiza el estudio.

Este proceso investigativo brinda un beneficio significativo de manera directa a la influencia de víctimas que acuden al centro de investigación de ciencias forenses se realiza la investigación; se pretende demostrar la correlación directa del estudio comparativo entre la determinación de PSA total y P30 con la valoración del líquido seminal en casos forenses.

El estudio goza de factibilidad, pues constituye un tema significativo, por lo tanto autoridades y funcionarios del Centro de Investigación de Ciencias Forenses de la ciudad de Ambato han demostrado interés ofreciendo su total colaboración en las labores investigativas considerando que tendrá un impacto positivo a nivel institucional.

“Siempre que dos objetos entran en contacto transfieren parte del material que incorporan al otro objeto” (Edmon Locard)

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1 POSICIONAMIENTO PERSONAL

Una vez revisada la biblioteca de la Universidad Nacional de Chimborazo pudimos constatar que no existe ningún tema referente al nuestro, previo a la obtención del título.

Esta 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 para la detección de líquido seminal.

2.2 FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.2.1 SISTEMA REPRODUCTOR MASCULINO

El aparato reproductor masculino es, junto con el femenino, el encargado de la reproducción, es decir, de la formación de nuevos individuos.

Los órganos genitales masculinos comprenden:

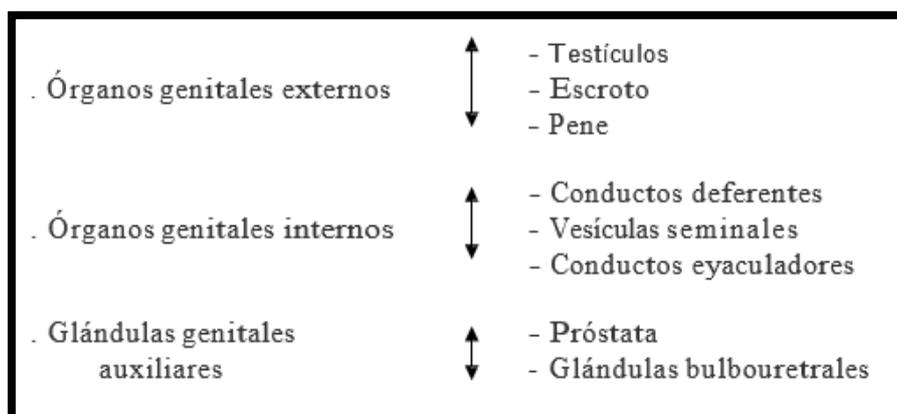


Figura 1. Sistema Reproductor Masculino
Fuente: Google

2.2.2 Próstata

2.2.2.1 Definición

La próstata es una glándula que existe únicamente en el varón.

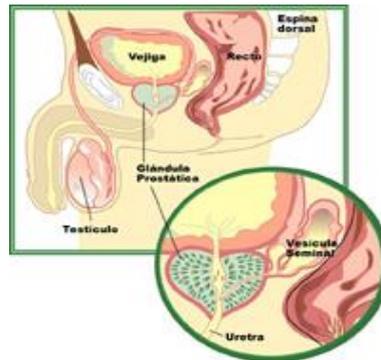


Figura 2. Próstata
Fuente: Google

Es un órgano interno que se encuentra en la pelvis situado detrás del pubis, delante del recto e inmediatamente por debajo de la vejiga de la orina. Envuelve y rodea la primera porción de la uretra (conducto que transporta la orina desde la vejiga al exterior), atravesándola en toda su longitud (uretra prostática).

Estas características anatómicas hacen fácilmente entendible que todos aquellos cambios y procesos patológicos tanto benignos como malignos que se produzcan en esta glándula van a provocar alteraciones más o menos notables en la forma de evacuar la orina (micción).

Aunque el tamaño de la próstata varía con la edad, se aceptan como normales unas dimensiones de 4 cm. de largo por 3 cm. de ancho. Clásicamente se ha dicho que tiene forma de castaña. Posee una fina envoltura que se conoce como cápsula prostática que define su límite. (AECC, 2015)

La próstata se relaciona íntimamente con otras estructuras del aparato reproductor como son los conductos deferentes y las vesículas seminales. Los conductos deferentes son unos tubos finos que van desde cada uno de los testículos hasta la

uretra prostática. Se encargan del transporte de los espermatozoides. Las vesículas seminales son unas estructuras con forma de saco que están por encima de la próstata y detrás de la vejiga.

Ambas estructuras vacían sus secreciones (líquido seminal y espermatozoides) en la uretra prostática mediante un conducto común, llamado conducto eyaculador que atraviesa la próstata. De aquí saldrán al exterior junto con la secreción de la misma (líquido prostático), constituyendo el semen.

Respuesta al estímulo

Durante el orgasmo, el esperma es transmitido desde los conductos deferentes a la uretra, a través de los conductos eyaculadores que entran en la próstata. (WIKIPEDIA, 2016)

2.2.3 Espermatogénesis

La espermatogénesis o formación de los espermatozoides, tiene lugar en los túbulos seminíferos de los testículos en donde se encuentran las células germinales en diversas fases de desarrollo. Las células germinales son células indiferenciadas llamadas espermatogonias que se multiplican por mitosis y contienen 46 cromosomas. Cada espermatogonia aumenta de tamaño y se convierte en un espermatocito primario que sigue teniendo 46 cromosomas. Al dividirse el espermatocito primario da lugar a dos espermatocitos secundarios cada uno de los cuales tiene ya 23 cromosomas, es decir, la mitad de la dotación genética de una célula normal. De cada espermatocito secundario se originan dos células hijas llamadas espermátides que también contienen 23 cromosomas. Por último, se produce la transformación de cada una de las espermátides en un espermatozoide. Se necesitan unos dos meses para formar un espermatozoide a partir de un espermatocito primario y este proceso solo ocurre a temperaturas inferiores a la del cuerpo humano. Por esta razón los testículos están alojados en el escroto, fuera de la cavidad abdominal. Cada día, alrededor de 300 millones de espermatozoides completan el proceso de espermatogénesis. En la pared de los tubos seminíferos se encuentran,

además, las células de Sertoli que proporcionan un soporte mecánico y metabólico a los espermatozoides y en el tejido conjuntivo situado entre los túbulos seminíferos se encuentran las células de Leydig que son las encargadas de secretar la hormona testosterona. La diferencia fundamental entre la espermatogénesis y la ovogénesis consiste en que las células germinales (las espermatogonias) del hombre continúan multiplicándose a lo largo de su vida adulta mientras que las de la mujer (ovogonias) terminan su multiplicación antes del nacimiento, quedando en la fase de ovocito primario.

Los espermatozoides y los ovocitos contienen solo 23 cromosomas, de modo que en el momento de la fecundación (penetración de un espermatozoide en un ovocito secundario), se formará una nueva célula, el cigoto o huevo, con 46 cromosomas, 23 de origen materno y 23 de origen paterno. (MONTAÑEZ, 2015)

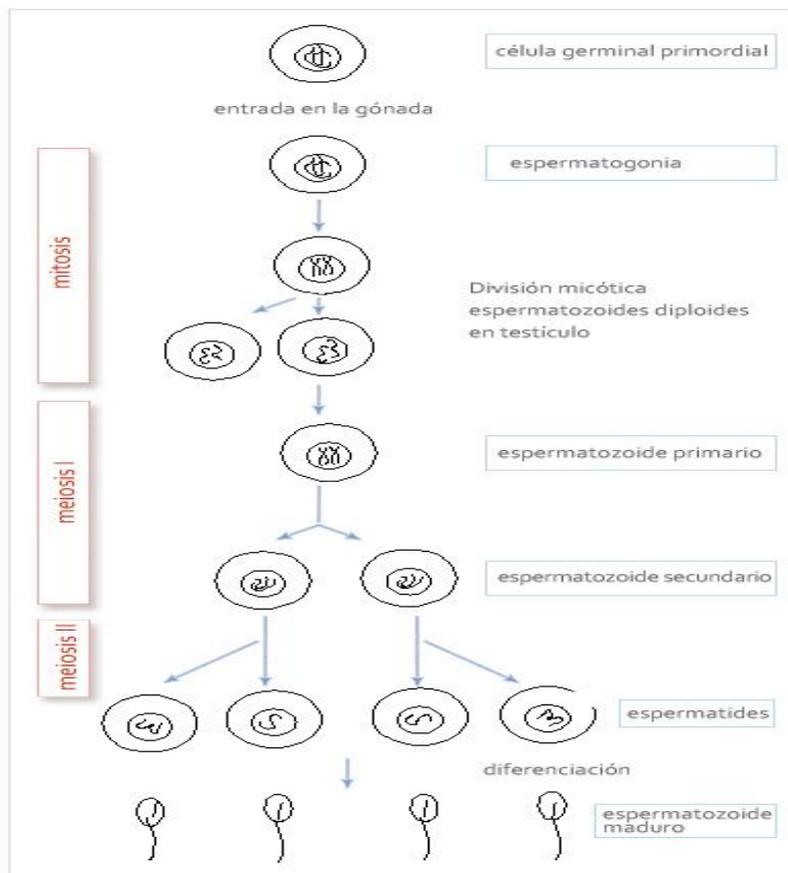


Figura 3. Espermatogénesis
Fuente: Google

2.2.3.1. Tiempo de vida de los espermatozoides

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
BOCA		Hasta 24 Horas

2.2.4 QUÉ ES EL PSA

2.2.4.1 Definición

Antígeno Específico de Próstata (PSA): 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. Existen casos donde el agresor puede ser azoospermicos o vasectomizados, en estos casos es muy importante de interés forense identificar fosfatasa ácida y PSA. La cuantificación positiva del PSA se considera como una prueba confirmatoria de la presencia de semen. En muestras de semen el promedio de PSA es mayor a 820.000 ng/ml. Mediante el método inmunológico ELISA (análisis Inmuno absorbente ligado a enzima) de extremada sensibilidad, es posible detectar concentraciones tan bajas de PSA como 0,2 ng/ml. (NIH, 2013)

En los últimos años han aparecido numerosos test semi-cuantitativos para la determinación de PSA, basados en la inmunocromatografía, realizados sobre suero o plasma. Presentamos nuestra experiencia en el uso del test PSA SEMIQUANT SERATEC que se realiza en plasma o suero para determinación cualitativa de PSA de forma rápida, y que usa como punto de corte 3 ng/mL.

En 1935, Kutscher y Wohlbergs informaron que la eyaculación masculina contiene una enzima que hidroliza diferentes esteres de fosfato a un pH ácido. Su origen se estableció como de la glándula prostática y la enzima que se llamó "fosfatasa de la próstata". El origen prostático de la enzima fue confirmada por Gomori en 1941, con el empleo de técnicas de tinción histoquímicas. En 1936, Gutman y sus colaboradores encuentran que la actividad de la fosfatasa ácida es bastante elevada en tejido esquelético metastásico y en pacientes que sufren cáncer de próstata.

En 1945, Lundquist, sugiere que las grandes cantidades de fosfatasa ácida prostática en el semen humano se utilicen como base para la identificación de semen en situaciones médico legales. Los estudios sobre esta posibilidad fueron llevados a cabo en Dinamarca por Hansen (1946), Riisfeldt (1946) y Rasmussen (1945). Rasmussen llevó a cabo ensayos cuantitativos de AP en semen, saliva, orina y secreciones vaginales. Los valores más bajos observados en material seminal superaron en casi 200 veces los valores más altos vistos en los otros materiales.

Significado clínico:

El antígeno prostático específico (PSA) es una serino-proteasa perteneciente a la familia de las kalicreínas que, aparentemente, sólo se origina en el epitelio prostático (normal, adenomatoso y maligno) y es secretada al fluido seminal. Sin embargo con metodologías más sensibles, como las empleadas en Inmuno histoquímica, se ha detectado PSA en tumores de mama, pulmón, colon, ovario, hígado, riñón, adrenal, paratiroides, tumor de piel y glándulas salivales.

El PSA tiene acción lítica y su función es el clivado de la semenogelina, principal proteína del coagulo seminal, permitiendo la licuefacción del mismo a fin de facilitar la motilidad espermática. (DÍAZ, 2010)

2.2.5 Técnica PSA Semiquant

Test de diagnóstico in vitro de uso profesional forense para la detección de fluido seminal, mediante la determinación semicuantitativa de PSA (Antígeno Prostático específico)

Uso Aconsejado

El test PSA es indicado para la detección rápida de PSA y fluido seminal. La interpretación es visual por la visualización de la línea del test en el caso de una muestra de PSA positiva. Si se requiere la intensidad de la línea del test puede ser correlacionada con la intensidad de un estándar interno el cual está ajustado hace bajar la intensidad de color de la línea del resultado del test de 4 mg/PSA.

Introducción

El PSA (antígeno prostático específico) es una glicoproteína producida en la próstata y secretada en el fluido seminal. El PSA es una de las proteínas principales del fluido seminal con concentraciones de 0,2 a 3 mg/ml. Su función principal es licuar el fluido seminal. Esta gran cantidad y de hecho el que el PSA se encuentra solamente a muy bajas concentraciones en el fluido vaginal femenino (0,4 – 0,9 ng/ml y 0,0 – 1,25 ng/ml respectivamente) 2,3 hace del PSA un interesante marcador en ciencias forenses para la detección incluso de pequeñas cantidades de fluido seminal. Las ventajas de una determinación de una PSA son:

- La detección de espermas posible en Casos donde no deben encontrarse espermatozoides (por ejemplo hombres vasectomizados).
- Pequeñas cantidades de espermas pueden ser registradas. Estudio de MACALUSO y otros (1999) indican, que una cantidad de sólo 10 micro litros de esperma incrementa la concentración de PSA en el fluido vaginal 200 veces.
- El PSA tiene una buena estabilidad. En una frotis vaginal es detectable hasta 14 - 47 horas después del coito. También en manchas de 30 años de antigüedad, el PSA puede ser recuperado a concentraciones detectables.
- El PSA es un marcador, el cual es más específico que el test de fosfatasa ácida.

El test será afectado en su evidencia por el hecho de que otros fluidos del cuerpo humano como sangre u orina pueden también contener PSA visto que la concentración de PSA en suero humano es normalmente bajo (<4 ng/ml) y está elevado solamente en el caso de enfermedades prostáticas hasta 200 ng/ml, la

cantidad de PSA en orina de hombres sanos muestra en algunos casos valores de 800 ng/ml. En caso de duda, una diferenciación entre fluido seminal y orina puede ser posible por la determinación de concentraciones de PSA, el más alto grado de dilución en orina de hombres con un resultado positivo de PSA reportado es 1:200.

Por otro lado muestras de semen generalmente dan resultados positivos de PSA incluso a factores de dilución de 1: 2000.000, esto es a veces 1000 veces mayor a la más alta dilución, estudios indican que niveles bajos de PSA son detectables en la orina de chicos de 11 años normalmente las concentraciones de PSA en los otros fluidos corporales son bajas por lo tanto una interferencia con la interpretación de resultado de Test es prácticamente imposible trabajando con materiales diluidos extraídos

Descripción del test

Originalmente el test PSA SEMIQUANT SERATEC fue desarrollado para la determinación de PSA en suero para permitir la detección de niveles elevados de PSA que podrían ser una indicación de cáncer de próstata. Para la detección de semen, el test es usado generalmente como test cualitativo. En casos especiales, sin embargo, puede ser de ayuda estimar la cantidad de PSA en la muestra correlacionando la intensidad de la línea de resultado del test con la del estándar interno.

Principio del test

El test PSA SEMIQUANT SERATEC es un inmunoensayo cromatográfica (CIA) para la determinación semicuantitativa y rápida de PSA en fluidos corporales. Contiene 2 anticuerpos monoclonales murinos anti PSA como componentes activos. Uno de estos anticuerpos está inmovilizado en la zona del test de la membrana.

La zona de control y la zona del estándar interno (entre zona control y zona del test) contienen anticuerpos policlonales anti ratón obtenido en cabras. La cantidad de anticuerpo de estándar interno está ajustada la intensidad de color de la línea la cual

es igual a la intensidad de color de la línea del test a una concentración de PSA de 4 ng/ml.

Un bloque de fibra de vidrio en la parte baja de la membrana es utilizado para la carga de la muestra y la transmisión a un segundo bloque de fibra con un segundo anticuerpo monoclonal murino anti PSA marcado en oro y desecado. El PSA de la muestra se unirá al anticuerpo marcado con oro y formará un complejo PSA-anti PSA marcado con oro.

A través del efecto de capilaridad de la membrana la mezcla de reacción incluyendo el complejo es transportado hacia arriba con el fluido.

En cualquier caso, el anticuerpo coloreado anti PSA marcado con oro se unirá al anticuerpo anti ratón en la zona control ya la zona del estándar interno desarrollando dos líneas rojas (una en la zona control y otra en la región del estándar interno). Estas dos líneas son independientes de la existencia de PSA en la muestra e indican solamente que la ejecución del test ha sido correcto.

Si la muestra contiene PSA, el complejo PSA-anti PSA marcado con oro se unirá al anticuerpo monoclonal inmovilizado de la zona de resultado del test que reconoce otro epítipo en la molécula de PSA (Complejo sándwich). La unión se muestra por la formación de una línea adicional así en una muestra positiva para PSA aparecen tres líneas coloreadas en la ventana de resultados. La línea que aparece en medio (estándar interno) correlaciona con la cantidad de 4 ng/ml de PSA. En algunos casos puede ser de utilidad estimar la cantidad de PSA en la muestra comparando la línea de resultado del test con la línea del estándar interno.

Materiales

Materiales suministrados: 40 test individuales precintados por kit, pipetas de plástico, 50 ml solución tampón y el protocolo de instrucciones de uso.

Materiales requeridos pero no suministrados: reloj avisador

Almacenaje y estabilidad

El test es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la bolsa sellada. Los test pueden almacenarse a temperatura ambiente o refrigerados (+4 a +30°C). El test debe mantenerse en la bolsa sellada hasta su uso.

Características cualitativas

Sensibilidad

El test es capaz de detectar PSA en su Rango de concentración de al menos 2 ng/ml PSA hasta 100 microgramos/ml PSA.

Tener en cuenta que muestras que contienen menos de 2 ng PSA/ml puede también producir resultados positivos débiles, así que 0,5 ng PSA/ml son en la mayoría de los casos aún detectados con el test. A concentraciones $>_500$ microgramos/ml el resultado del test está afectado por un exceso de PSA resultando un efecto Hook.

Preparaciones de referencia

Las características cualitativas del test son confirmados en un test final de control de calidad usando el siguiente estándar WHO: Antígeno prostático específico (90:10), primer estándar internacional

Características de la realización

Las características de la realización siguientes han sido observadas a una concentración de 2 ng PSA/ml (límite de detección garantizada del test PSA SEMIQUANT SETATEC).

- ✓ Sensibilidad diagnóstica 100%
- ✓ Específica diagnóstica 100%
- ✓ Valor predictivo positivo 100%
- ✓ Valor predictivo negativo 100%
- ✓ Reproducibilidad 100%

Para la discriminación de los rangos de concentración de $<y>_4$ ng/ml PSA como es requerido para el diagnóstico de carcinoma de próstata, las características de la realización del test fueron evaluados en dos estudios clínicos independientes.

El listado siguiente nos muestra la media de los resultados:

- ✓ Sensibilidad diagnóstica 90%
- ✓ Especificidad diagnóstica 88,7%
- ✓ Valor predictivo positivo 83,3%
- ✓ Valor predictivo negativo es 96,5%
- ✓ Reproductividad 90,2%

Especificidad

El test nos muestra que no tiene reactividad cruzada con otras proteínas de fluido seminal. Un Inmunoblot con fluido seminal usando los anticuerpos PSA respectivos resultó solamente una línea reactiva en el peso molecular del PSA. No se ha observado reactividad cruzada con fluido seminal de otros mamíferos (perro, gato, caballo, toro, cerdo) excepto para el fluido seminal de primates. No se ha observado reactividad cruzada con suero sanguíneo.

Suero sanguíneo de hembras con un contenido de PSA por debajo del límite de reacción, no se observó reactividad.

Tener en cuenta que en casos raros en nuestras extremadamente hemolíticas con un color rojo oscuro pueden resultar una línea de resultado del test débil que se vuelve más débil a medida que pasa el tiempo. Muestras con un ligero color rojizo debido a células sanguíneas hemolizadas no causa la formación de una línea de resultado del test.

“La persona que nunca se equivoca, nunca prueba algo nuevo” (Albert Einstein)

2.2.6 Procedimiento del test

Precauciones

Fluido seminal y todos los materiales que han estado en contacto con él deben ser manipulados y dispuestos como potencialmente capaces de transmitir infección. Evitar el contacto con la piel utilizando guantes y el atuendo apropiado en el laboratorio. El test y todos los materiales que han estado en contacto con fluido seminal deben pasarse por la autoclave antes de tirarse.

- No utilizar los test después de la fecha de caducidad o si la bolsa ha sido dañada.
- El test se compone de materiales potencialmente infeccioso (ejemplo anticuerpos). Estos materiales no causan peligro si el equipo es usado de acuerdo con las instrucciones.
- No abrir las cosas hasta cuando se esté preparado para realizar el ensayo.

Manipulación y recolección de muestras

El fluido seminal debe ser diluido al menos 1:500 antes de utilizarse debido a su extremadamente alto contenido de PSA. Para la dilución, soluciones tampón estándar a un rango de pH neutro (preferencial: 1M Tris salino pH=8.2) pueden ser utilizados.

Manchas de semen o torundas pueden ser extraídas con un tampón, mediante incubación en un agitador durante 2 horas a 4°C. El PSA contenido en él sobrenadante es separado centrifugado durante 3 minutos a 13.000 y si es necesario-diluido. Es utilizado como muestra para realizar el test. Partículas de tejido no interfieren con el resultado del test.

¡NOTA!

- Una alta viscosidad de la muestra puede interferir con la capilaridad.
- Evitar muestras altamente hemolíticas con un color rojo intenso.
- Las muestras deben estar alrededor de un pH neutro (entre pH 5-9).

- Permitir que las muestras alcancen la temperatura ambiente antes de iniciar el test.

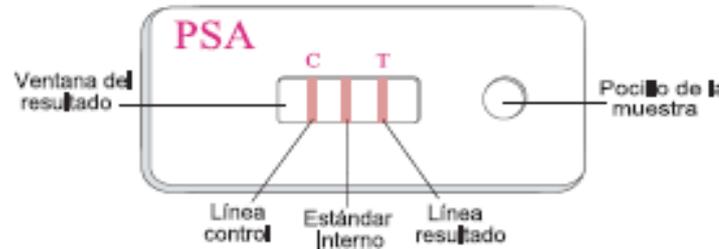


Figura 4. Cassette de prueba (PSA)
Fuente: Técnica empleada

- Llevar el equipo del test a temperatura ambiente. Sacarlo de la bolsa protectora y marcar el equipo del test para su identificación.
- Añadir 5 gotas (aprox. 200 micro litros) de muestra en el pocillo de muestra. Reservar la muestra sobrante para el caso que fuera necesario realizar diluciones
- Leer el resultado después de 10 minutos de incubación a temperatura ambiente. No debe haber fluido sobrante en el pocillo de la muestra en ese momento. Si se desea estimar la cantidad de PSA comparando con el estándar interno mantener estrictamente los 10 minutos. De otra forma las intensidades del estándar interno y el resultado pueden cambiar el resultando unas lecturas incorrectas.

Interpretación de resultados

Muestras con PSA negativo (por debajo del límite de detección) mostrarán 2 líneas en la ventana de resultados, sin embargo muestras con PSA positivo mostrarán 3 líneas:

Línea del resultado del test (T): Refleja la concentración del PSA en la muestra y es visible solamente en muestras con PSA positivo.

Estándar interno: La intensidad de color correlaciona con una concentración de aproximadamente 4 ng/ml de PSA.

Línea control (C): Control para ver posibles errores en el procedimiento y de integridad de los componentes.

Resultados negativos (Inexistencia de PSA o en concentraciones por debajo del límite de detección). La línea de resultado del test (T) no es detectable. La aparición de la línea del estándar interno y la de control (C) Se confirma la validez del test. En este caso es bastante seguro que la muestra no contiene fluido seminal.

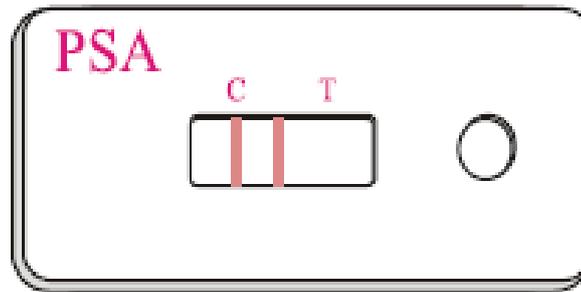


Figura 5. Resultado Negativo (PSA)

Fuente: Técnica empleada

Nota: Asegurarse que la dilución de la muestra se encuentra dentro de los rangos de detección de concentración de PSA. Concentraciones de PSA muy bajas (por ejemplo debido a una insuficiente extracción) o muy altas (por ejemplo debido a una insuficiente dilución; 500 microgramos/ml, resulta un efecto Hook) intervienen con la formación del resultado del Test.

Resultado positivo (PSA detectable) aparece la línea de resultado del test (T), la del estándar interno y la del control (C). En este caso es bastante seguro que la muestra contiene fluido seminal.

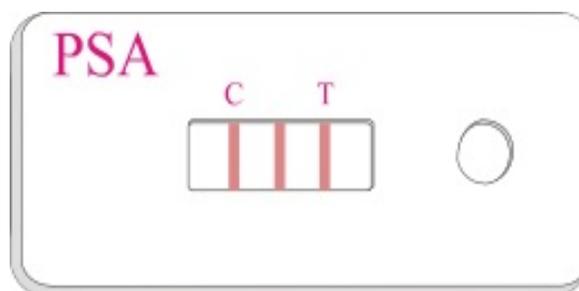


Figura 6. Resultado Positivo (PSA)

Fuente: Técnica empleada

Nota: Si existiese el riesgo de mezcla de PSA de diferentes fluidos corporales y fluido seminal se deberá intentar conseguir unos resultados más precisos realizando más altas disoluciones.

Resultado inválido

Las líneas del estándar interno y del control (C) no son detectables. El test debe ser invalidado y repetir el ensayo con un nuevo cassette.

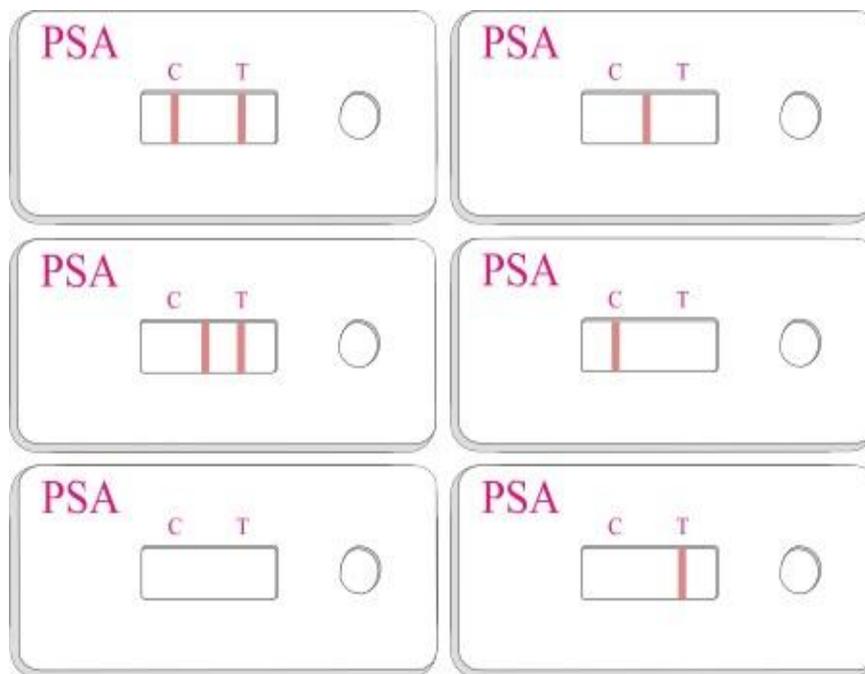


Figura 7. Resultados inválidos (PSA)
Fuente: Técnica empleada

Nota: Si la muestra contiene grandes cantidades de PSA es posible que la intensidad de color de la línea color sea solamente débil.

2.2.7 Control de Calidad

Un proceso de control está incluido en la prueba. La aparición de líneas coloreadas en la banda de la región de control (C) y en la banda de la región de referencia (R) es considerado un procedimiento de control interno. Confirme el uso de volumen

suficiente del espécimen, y una adecuada reacción de la membrana y técnicas procesales correctas.

Estándares de control no son proporcionados con este kit, sin embargo se recomienda controles positivos y negativos para ser usados con la prueba como una buena práctica de laboratorio y para verificar una buena performance de ella. (HOCHMEISTER, 2009)

2.2.8 QUÉ ES LA PROTEÍNA P30

2.2.8.1 Definición

La prueba P30 está diseñada para la detección cualitativa de la proteína P30 en la identificación de semen. El P30 es un marcador aceptado para la detección de líquido seminal en casos criminales incluyendo individuos vasectomizados o azoospermicos.

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

Hisopados Genitales: Genitales externos, periné y ano

Hisopados Paragenitales: Superficie interna de los muslos, nalgas, pubis.

Hisopados Extragenitales: Superficie externa restante de la cavidad genital (AVENDAÑO, 2012)

La proteína P30 Es un marcador específico de semen; es producido por la próstata. Se demuestra por inmunoensayo. Puede emplearse en combinación con la fosfatasa ácida para confirmar presencia de semen en sujetos azoospermicos P30 presente, reaccionara con el anticuerpo humano monoclonal móvil anti-P30 y se forma un complejo móvil antígeno-anticuerpo. Este complejo de antígeno-anticuerpo migra a través de la tarjeta absorbente del test hacia el área marcada como “T”. En esta área el anticuerpo anti-proteína P30 humana es inmovilizado. Este anticuerpo inmovilizado captura el complejo antígeno-anticuerpo y se forma un complejo tipo

sándwich anticuerpo-antígeno-anticuerpo. Este conjugado otorga una coloración rosa (línea) en la zona marcada como “T”. (FGE, 2012)

2.2.9 Técnica de la Proteína P30

DETERMINACIÓN FORENSE DE PROTEINA P30 EN LÍQUIDO SEMINAL HUMANO.

Introducción

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.

Objetivo

Determinar la presencia de la proteína P30 en las muestras obtenidas por agresión sexual, atentado al pudor, escena del crimen y otros, utilizando la prueba inmunocromatográfica de P30 como prueba confirmatoria.

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, preservativos y otros soportes.

Materiales:

- ABACard P30
- Centrifuga
- Micro tubos
- Pinzas
- Pipetas automáticas
- Puntas para pipetas automáticas
- Refrigerador
- Tijeras

- Timer
- Vórtex

Fundamento del método

En este procedimiento, 200 µl de muestra es adicionado al pocillo “S”. Si P30 está presente en la muestra de semen esta reaccionará con el anticuerpo monoclonal móvil antihumano P30 y un complejo antígeno-anticuerpo móvil se forma entonces. Este complejo móvil antígeno-anticuerpo migra a través del dispositivo absorbente hacia el área “T” de la prueba.

En el área “T” un anticuerpo monoclonal anti humano P30 es inmovilizado. Este anticuerpo inmovilizado captura el complejo de arriba, formando un Sándwich anticuerpo-antígeno-anticuerpo. El conjugado concentrado de partículas se colorea en rosa en una zona estrecha sobre la membrana. Cuando la concentración de P30 en la muestra excede 4ng/ml las partículas marcadas en rosa formarán una banda coloreada rosa en el área “T” del test indicando un resultado positivo de la prueba. Como un control positivo, los anticuerpos conjugados P30 marcados no pueden ligarse al anticuerpo en el área “T” de la prueba pero son capturados por un anticuerpo anti inmunoglobulina inmovilizado presente en el área “C” del control formado un complejo.

Las partículas marcadas en rosa capturadas formarán una banda en el área “C” del control indicando que el test funcionó correctamente y los procedimientos apropiados se siguieron. La presencia de dos líneas coloreadas, una en el área “T” y otra en el área “C” podrían indicar un resultado negativo (siempre que no haya un “efecto prozona de la dosis alta”)

Estabilidad, almacenamiento y vida media

El test de detención ABACard P30 podría ser almacenado debajo de los 28° C en el paquete sellado hasta la fecha de espiración impresa en el paquete.

No congelar.

No usar después de la fecha de espiración

2.2.10 PROCEDIMIENTO

Colección, preparación y almacenaje de las muestras protocolo del test

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

1. En un microtubo colocar 700ul de buffer de extracción de muestras de hisopos (Corte longitudinal) o manchas (corte aprox. 0.5mm o 3mm)
2. Vortexear 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. Remover el dispositivo y el gotero del paquete sellado.
6. Etiquetar el dispositivo con el número de caso.
7. Adicionar 4-5 gotas con el gotero de la muestra al pocillo “S” del dispositivo.
8. Leer los resultados a los 10 minutos.
9. Esta alícuota podría ser almacenada entre 2-8° C sino se usa inmediatamente.

NOTA: La muestra restante puede ser usada además para el análisis de ADN, sin afectar el rendimiento de ADN.

PROCEDIMIENTOS PARA LEVANTAMIENTO DE EVIDENCIAS (SEMEN) EN SOPORTE SÓLIDO.

Existen muchos casos en los que los fluidos biológicos como el semen se deben retirar de soporte sólido (prendas de vestir, sábanas toallas, papel y otros) para posterior estudio de la proteína P30. 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 sólido 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 sólidas se tomará con hisopo (corte longitudinal) y en los demás casos se realizará un corte aprox. 0.5mm o 3mm máximo.
4. Agregar en un microtubo con 700ul de buffer de extracción.
5. Vortexear
6. Colocar en refrigeración por dos horas (-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 3.600rpm 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 200ul (4-5gotas 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° CX 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



Figura 8. Tipos de Resultados (P30)
Fuente: Técnica empleada

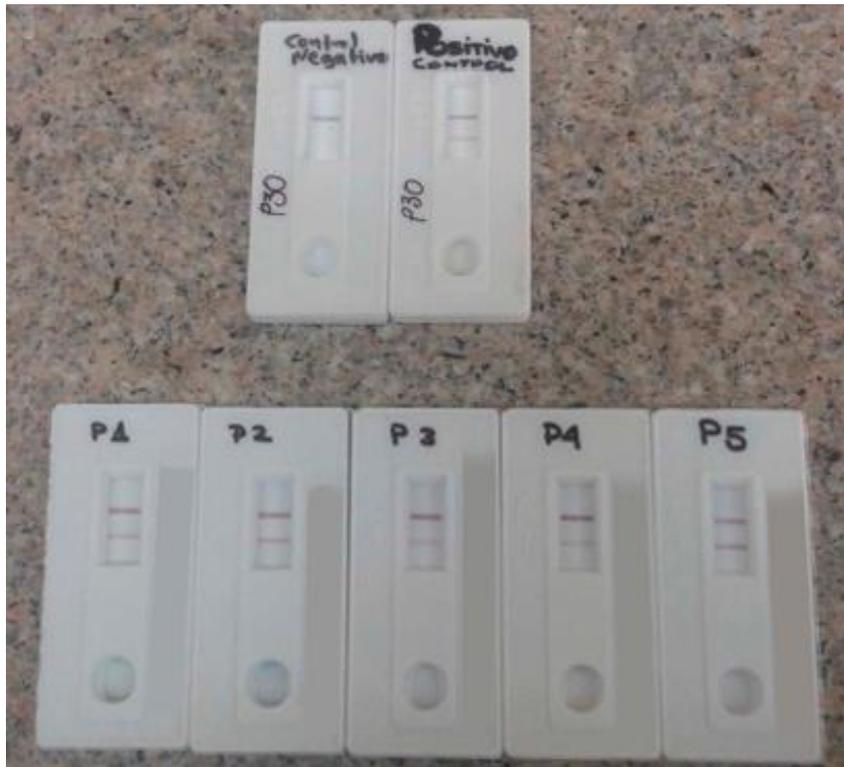


Imagen 1 Lectura del test (P30)

Fuente: Fotografía tomada por los investigadores en el lugar de la realización de la técnica

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 4ng/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 4ng/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 el test y examinar el procedimiento cuidadosamente.

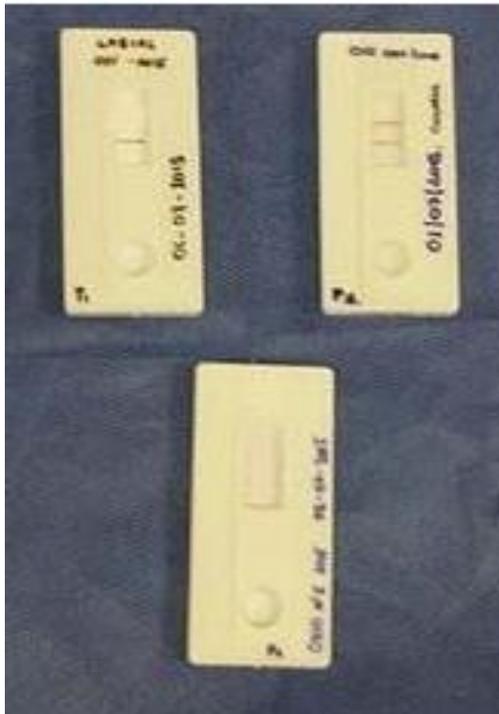


Imagen 2 Resultado Inválido (P30)

Fuente: fotografía tomada por los investigadores en el lugar de la investigación

2.2.11 Control de calidad

La línea 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 correctores procedimientos. Se podría realizar un test de control de calidad usando estándares de controles positivo y negativo.

Limitaciones

- 1) ABACard P30 es solo para detención en vitro de P30 para la identificación forense de semen.
- 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.

Especialidad

- A. La hemoglobina (10gr/l) bilirrubina (100mg/l) y muestras lipémicas (5g/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.

Sensibilidad del test

- ✓ El rango de P30 es de 200.000 a 5.5 millones de ng/ml de semen.
- ✓ El límite de detención mínimo del test es de 4ng/ml en 10 minutos.
- ✓ Dependiendo de la concentración de P30, fluido seminal diluido 1:1000000 se puede detectar.
- ✓ Resultados positivos con niveles altos de P30 se pueden obtener después de 1 minuto de realizada la prueba.
- ✓ Para resultados negativos se debe esperar por lo menos 10 minutos.

Responsable

Perito Acreditado

Emisión del Dictamen Pericial

Con los resultados de los análisis realizados por el Instituto de Investigaciones Forenses se elabora el Dictamen Pericial el mismo que se pone a conocimiento del Fiscal, Juez o Tribunal. (FGE, 2012)

2.2.12 COMPARACIÓN ENTRE TÉCNICAS DE PSA Y PROTEÍNA P30

Las técnicas empleadas tanto en el laboratorio clínico como en el laboratorio forense son de gran validez para la investigación criminalística porque los fluidos corporales corresponden a características físicas del sospechoso.

2.2.13 Análisis comparativo entre técnicas de PSA y proteína P30

Al poner en práctica estas dos técnicas para valorar la presencia de semen por el método de inmunocromatografía hemos podido plantear las diferencias entre estos dos métodos.

PSA TOTAL	PROTEINA P30
Las muestras que determina este test son : Suero, orina y líquido seminal.	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.
Es un inmunoensayo cromatográfica (CIA) para la determinación semi-cuantitativa rápida de PSA en fluidos corporales. Contiene 2 anticuerpos monoclonales murinos anti PSA como componentes activos. Uno de estos anticuerpos está inmovilizado en la zona del test de la	Si P30 está presente en la muestra de semen esta reaccionará con el anticuerpo monoclonal móvil antihumano P30 y un complejo antígeno-anticuerpo móvil se forma entonces. Este complejo móvil antígeno-anticuerpo migra a través del dispositivo absorbente hacia el área “T” de la prueba. En el área “T” un

<p>membrana, zona control y la zona del estándar interno (entre zona control y zona del test) contiene anticuerpos policlonales anti ratón obtenidos en cabra. La cantidad de anticuerpo de estándar interno está ajustada a la intensidad de color de la línea.</p>	<p>anticuerpo monoclonal anti humano P30 es inmovilizado. Este anticuerpo inmovilizado captura el complejo de arriba, formando un Sándwich anticuerpo-antígeno-anticuerpo. El conjugado concentrado de partículas se colorea en rosa en una zona estrecha sobre la membrana.</p>
<p>La toma de muestra es realizada por un analista clínico.</p>	<p>La toma de muestra es responsabilidad del Perito ,Médico Legista, y/o centros de salud públicos o privados acreditados</p>
<p>La Recepción de muestras se realiza bajo pedido del médico general o tratante.</p>	<p>La Recepción de las muestras biológicas adjuntas con la solicitud de análisis pericial a requerirse, es emitida por la Autoridad competente y/o Médico Legal</p>
<p>Se presenta generalmente en hombres que padecen enfermedades prostáticas Y es posible en casos donde no deben encontrarse espermatozoides (por ejemplo hombres vasectomizados).</p>	<p>El P30 es un marcador aceptado para la detección de líquido seminal en casos criminales incluyendo individuos vasectomizados o azoospermicos y en muestras de orina pos eyaculación en adultos.</p>
<p>El test será afectado en su evidencia por el hecho de que otros fluidos del cuerpo humano como sangre y orina pueden también contener PSA visto que la concentración de PSA en suero humano es normalmente bajo 4 mg y está elevado solamente en el caso de enfermedades prostáticas hasta 200 ng</p>	<p>Este test es confiable debido a que la proteína P30 está presente únicamente en el líquido seminal.</p>

Una alta viscosidad de la muestra puede interferir con la capilaridad.	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.
El procedimiento consta de añadir dos gotas de la muestra y uno del disolvente	El proceso consta en extraer el analito para poder cumplir con varios pasos y así obtener el resultado.
Los cassette de PSA son utilizados para uso diagnóstico.	Los cassette inmunocromatográficos para determinación de proteína P30 es solo para detección in vitro de semen mas no para uso diagnóstico
El almacenamiento puede ser a temperatura ambiente o refrigerada de 4 a 30 grados, debe permanecer en la bolsa cerrada hasta su uso.	El test de ABACard P30 es almacenado debajo de 28 grados °C en el paquete sellado, no se debe congelar.
Muestras con PSA negativo (por debajo del límite de detección) mostrarán 2 líneas en la ventana de resultados, sin embargo muestras con PSA positivo mostrarán 3 líneas.	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.

2.2.14 IDENTIFICACIÓN DE LAS TÉCNICAS EMPLEADAS

2.2.14.1 Inmunoensayo

Es un conjunto de técnicas inmunoquímicas analíticas de laboratorio que tienen en común el usar complejos inmunes, es decir los resultantes de la conjugación de anticuerpos y antígenos, como referencias de cuantificación de un analito (sustancia objeto de análisis) determinado, que puede ser el anticuerpo

(Ac) o un antígeno (Ag), usando para la medición una molécula como marcador que hace parte de la reacción con el complejo inmune en la prueba o ensayo químico.

La técnica se basan en la gran especificidad y afinidad de los anticuerpos por sus antígenos específicos y se usan los anticuerpos monoclonales (obtenidos en el laboratorio) o de sueros policlonales (obtenidos de animales), siendo más específicos los monoclonales.

Su gran sensibilidad y especificidad permite la cuantificación de compuestos presentes en líquidos orgánicos en concentración reducida, del orden de nanogramos/ml o depicogramos/ml.

El desarrollo del inmunoensayo ha tenido gran impacto en el campo del diagnóstico médico mediante pruebas de laboratorio o química clínica.

Tipos

Por la técnica de medición

- ✚ **Competitivo:** el Antígeno (Ag) objeto de la medición compite con un antígeno marcado por un anticuerpo (Ac). Se mide por la cantidad del antígeno marcado sin conjugar que se considera es inversamente proporcional al analito.
- ✚ **No competitivo (llamado también tipo sándwich):** el Ag de la muestra reacciona con dos Ac diferentes que se fijan a distintas partes del Ag. Uno de los Ac generalmente está en soporte sólido para facilitar la separación de la fracción ligada, y el otro Ac lleva la marca. Se mide por la cantidad del marcador considerando que es directamente proporcional a la cantidad del analito.

Por el medio donde se realiza la medición

- ✚ **Homogéneo:** En este tipo de ensayo la señal generada por la unión del antígeno y el anticuerpo se mide directamente en el mismo medio que se utiliza para favorecer la formación del complejo inmune.

- ✚ **Heterogéneo:** En este tipo de ensayo la señal generada por la unión del antígeno y el anticuerpo se mide en un medio diferente que el utilizado para la unión del complejo inmune, generalmente implican una etapa intermedia de lavado para eliminar interferencias.

Se considera que los inmunoensayos con formato homogéneo no competitivo son los más sensibles y específicos. (WIKIPEDIA, WIKIPEDIA, 2014)

2.2.14.2 Pruebas Inmunocromatográficas

La inmunocromatografía es una de las técnicas de Inmuno diagnóstico más modernas cuyas principales ventajas son la simplicidad y rapidez de la prueba. 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 problema, éste se unirá al conjugado formando un complejo inmune y migrará a través de la membrana de nitrocelulosa. Si no, migrarán el conjugado y la muestra sin unirse.

La zona de captura está formada por un segundo anticuerpo específico contra otro epítomos 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 en este caso como rosa o azul (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.

“La mente es como un paracaídas, solo funciona si se abre” (Albert Einstein)

2.2.15 Tipo de reacción producida en las técnicas

Antígeno

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 cápsida 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.

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") y otras dos más cortas y ligeras ("cadenas L").

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.

Especificidad

La unión dada por la especificidad es muy precisa y permite distinguir entre grupos químicos con diferencias mínimas a pesar de su similitud; además, permite la detención de un sólo antígeno en cuestión. Por ejemplo permite distinguir entre albúmina de un organismo a otro a pesar de que la variabilidad en los parátomos sea mínima.

Rapidez

La velocidad con que ocurre la primera etapa de la reacción Ag-Ac es del orden de milésimas de segundo, y está limitada únicamente por la difusión. La segunda etapa, que es más larga, incluye todas las manifestaciones que se presentan como consecuencia de la interacción, tales como precipitación, aglutinación, neutralización, etc., esto es muy importante.

Espontaneidad

La reacción Ag-Ac no requiere energía adicional para efectuarse.

Reversibilidad

Dado que la reacción se debe a fuerzas no covalentes, es reversible y, en consecuencia, se ve afectada por factores como la temperatura, la proporción de Ag-Ac, el pH y la fuerza iónica. (PEDRIQUE, 2008)

2.2.16 Cuál de las dos técnicas es más específica

La Técnica más específica es la de proteína P30 porque es un antígeno prostático específico y su presencia indica en forma contundente que es semen humano. En los delitos sexuales este fluido corporal es elemento de identificación humana. La ausencia de espermatozoides no descarta que el fluido sea semen porque éstos se destruyen con facilidad y el sospechoso puede ser oligoespérmico (poca cantidad de semen) o azoospérmicos (ausencia de espermatozoides). Es el químico forense el que determina que la mancha es de semen. Para Juventino Montiel las manchas de semen también se pueden encontrar en escenas de delitos no sexuales en donde hubo una masturbación.

La fosfatasa ácida es una enzima presente en abundancia en el líquido seminal desafortunadamente no es específica de este y puede encontrarse en hígado y en secreciones vaginales motivo por el cual muchas pruebas dirigidas a demostrar su presencia pueden ser falsas como la reacción de desarrollo del color y se necesitan pruebas específicas como la proteína P30 que reacciona específicamente con la fracción prostática de la enzima y puede identificarse por radio inmunoensayo o por Inmuno electroforesis.

2.2.17 EL LABORATORIO FORENSE

2.2.17.1 Definición

Un laboratorio es un lugar físico que se encuentra especialmente equipado con diversos instrumentos y elementos de medida o equipo en orden a satisfacer las demandas y necesidades de experimentos o investigaciones diversas, según el ámbito al cual pertenezca el laboratorio en cuestión.

El laboratorio forense es una herramienta de considerable validez para la investigación del delito de violación y otros delitos; Una especialidad científica sumamente amplia.

Con los avances tecnológicos y científicos actuales, la Criminalística ha experimentado una verdadera revolución, a tal punto que ahora, esta antigua rama de la Medicina Legal es considerada como una verdadera ciencia independiente de increíbles avances y logro dentro de su campo de acción.

El análisis de laboratorio de los signos indiciarios (mancha de sangre, semen, pelos, etc.) puede aportar pruebas de incalculable valor para que prevalezca la justicia y el derecho evitando la condena de los inocentes o la impunidad de los delincuentes.

En la actualidad son muy frecuentes algunos vicios procesales, tales como la falta de medios probatorios. A diferencia de otros elementos LAS PRUEBAS deben ser resguardadas inmediatamente ocurridos el hecho dentro del marco legal que corresponda.

Es por ello que se torna evidente como en un mundo donde las ciencias forenses han evolucionado considerablemente. El proceso jurídico debe ser abordado desde sus dos vértices fundamentales LA PRUEBA – LA NORMA.

La PRUEBA FORENSE por el Criminalista y la NORMA JURÍDICA por un profesional en Derecho. Ambos recursos atravesados por el aporte de la más alta tecnología en materia Forense.

El Laboratorio Forense del Ministerio Público es una dependencia que, a través del uso de medios científicos y técnicos, facilita la investigación fiscal y brinda pruebas de cargo y descargo de alto nivel técnico que llevan a demostrar con objetividad la verdad histórica de los hechos.

Tiene como misión intervenir en la investigación de hechos punibles y realizar pericias técnico - científicas para el esclarecimiento de estos; aplicando un modelo de gestión comprometido con la calidad, la competencia y la participación objetiva, ética y profesional de sus recursos humanos. El fin es coadyudar en la administración

de Justicia y colaborar con el Ministerio Público, los tribunales de Justicia y los demás organismos que la ley señale.

Los técnicos de laboratorio forense, también conocidos como técnicos de laboratorio criminalistas o técnicos en ciencias policiales, usan métodos científicos de laboratorio para analizar la evidencia física de una escena de crimen. Sus análisis y testimonios son usados a menudo como herramientas durante procesos legales tanto para la defensa como para la parte acusadora. Los científicos forenses pueden ser generalistas o especializarse en un campo en particular.

2.2.18 Laboratorios forenses en el Ecuador

“La gran responsabilidad es el de resolver hoy, inmediatamente la mayor cantidad de causas y crímenes y para ello es imprescindible aplicar todas las estrategias que la ciudadanía demanda para resolver acciones ilícitas y delitos cometidos“.

“El país presenta una baja histórica en cuanto a cifras de homicidios. Hemos logrado entre el año 2009 y el año 2013 un descenso de 8 puntos en los índices de homicidios y asesinatos por cada 100 mil habitantes. Desde el año 2001 había un incremento sistemático de los homicidios y asesinatos en nuestro país. De doce casos por 100 mil habitantes en el año 2001 habíamos llegado al 2009 ya con 18, casi con 19 casos por cada cien mil habitantes en este delito. Si hubiese seguido esta tendencia sin hacer nada, sin trascender en nada, simplemente este rato podríamos estar hablando de tasas de homicidios de 32 casos por cada 100 mil habitantes, es decir una situación ya inviable para la convivencia social pacífica”, apuntó el Secretario de Estado.

Este laboratorio es una herramienta fundamental para que nunca más los agentes investigadores civiles y policiales utilicen la subjetividad en los informes que eventualmente pueden tener o podían ser manipulados y no sean objetivos, “tenemos que hablar siempre con la verdad y erradicar todas esas prácticas definitivamente” recalcó el funcionario de Estado. (HERRERA, 2015)

2.2.19 Centro de Investigación de Ciencias Forenses de la ciudad de Ambato

Lugar donde se realizan análisis científicos hechos por especialistas acreditados y con equipos de alta tecnología son pruebas irrefutables que evitan especulaciones en los procesos penales. Se cuenta con estos centros forenses.

A este centro llegan las evidencias recopiladas sobre casos de violación, personas fallecidas en hechos violentos, sustancias estupefacientes, se analizan evidencias físicas como armas corto punzantes, ropa y muestras biológicas como fibras, cabellos, sangre, semen, orina y otros.

Estos constituyen un pilar fundamental del Sistema Especializado Integral de Investigaciones, de Medicina Legal y Ciencias Forenses del país.

Con el propósito de lograr un manejo idóneo y homogéneo de este proceso investigativo, la Fiscalía General elaboró el reglamento y los respectivos manuales, protocolos, instructivos y formatos.

Esto se hizo en cumplimiento de la Disposición Transitoria Octava del Código Orgánico Integral Penal (COIP), en vigencia.

Según el fiscal General, Galo Chiriboga Zambrano, uno de los objetivos de estos centros forenses es lograr una investigación científica del delito.

Para su apropiado funcionamiento el Centro Forense de la ciudad de Ambato cuenta con espacios y dependencias adecuados para el efecto, especificados a continuación:

“Los restos microscópicos que cubren nuestra ropas y cuerpos son testigos mudos, seguros y fieles de nuestros movimientos y encuentros” (Edmond Locard)



Imagen 3 FGE Centro Forense de Ambato
Fuente: Fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación



Imagen 4 Parte lateral del Centro Forense de Ambato
Fuente: fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación



Imagen 5 Exteriores del Centro forense de Ambato
Fuente: fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación

ÁREA ADMINISTRATIVA



Imagen 6 Recepción

Fuente: fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación



Imagen 7 Oficinas del Centro forense

Fuente: Fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación



Imagen 8 Ingreso al área de oficinas
Fuente: fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación



Imagen 9 Departamentos del centro forense
Fuente: fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación



Imagen 10 Pasillo (Centro de datos)

Fuente: fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación

2.2.20 Clases de laboratorios forenses

En el centro forense de la ciudad de Ambato encontramos 4 tipos de laboratorio que son:

Laboratorio de Química Forense: Consta de suministro de equipos de laboratorio, herramientas y técnicas forenses para la detección e identificación de materiales y sustancias químicas, tales como drogas, explosivos, líquidos corporales y los venenos sobre la base de los métodos aprobados legales y científicos.

“El tiempo que pasa, es la verdad que huye” (Edmond Locard)



Imagen 11 Laboratorio de química forense

Fuente: Fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación



Imagen 12 Instrumentos (Gases)

Fuente: Fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación



Imagen 13 Aplicación de muestras
Fuente: Fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación



Imagen 14 Cámara de Flujo
Fuente: Fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación

Laboratorio de Biología Forense: Optimiza y simplifica el aislamiento de ADN, cuantificación, y los procedimientos de determinación para minimizar el error humano, reducir la contaminación y aumentar la integridad de los datos y la trazabilidad.



Imagen 15 LABORATORIO DE BIOLOGÍA FORENSE
Fuente: fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación



Imagen 16 Almacenaje de muestras
Fuente: fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación

Laboratorio de Histopatología forense: La Histopatología Forense comprende el estudio microscópico de los órganos extraídos durante la práctica de la autopsia judicial utilizando las herramientas y metodología propias de la histopatología clínica.

Es una disciplina que se nutre de la Histología; o sea de la ciencia que trata del origen, morfología y función celular; de la Histopatología que se dedica al estudio de las células, de los tejidos y de los órganos alterados; y de la Medicina Legal.

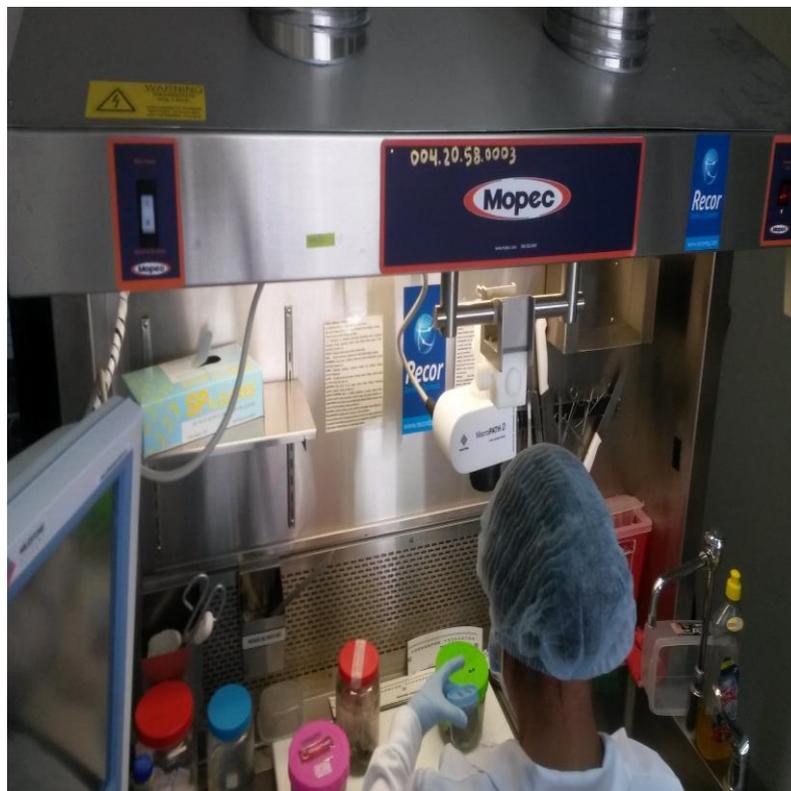


Imagen 17 LABORATORIO DE HISTOPATOLOGÍA FORENSE
Fuente: fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación

“Nuestras huellas dactilares no se borran de las vidas que tocamos” (Remember)



Imagen 18 Ejemplares de muestras

Fuente: fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación



Imagen 19 Micrótopo

Fuente: fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación

Laboratorio de Tanatología forense: Estudia los cambios físicos, químicos y microbianos que se observan en el cadáver, su propósito es establecer el cronotanatodiagnóstico.

Cadáver.- Es el cuerpo humano en el que se ha comprobado la pérdida de la vida

Muerte.- Cese irreversible de las funciones vitales incluyendo las del tallo cerebral.

Parámetros para determinar la muerte de una persona. (DIGNIA, 2012)

- Pérdida de la conciencia
- Pérdida de la respiración
- Pérdida de latidos cardiacos
- Nula respuesta a estímulos externos
- Ausencia de reflejos pupilares
- Ausencia de reflejos osteotendinosos
- Trazo isoelectrico del electroencefalograma



Imagen 20 LABORATORIO DE TANALOGÍA

Fuente: Fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación



Imagen 21 Muestras almacenadas

Fuente: fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación



Imagen 22 Cuarto frío

Fuente: fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación



Imagen 23 Laboratorio para extracción de muestras (Tanatología)
Fuente: fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación

2.2.21 LABORATORIO DE BIOLOGIA DEL CENTRO FORENSE DE LA CIUDAD DE AMBATO

Locard, sostiene que al malhechor le es imposible actuar sobre toda la intensidad que supone el hecho delictuoso, sin dejar indicios de su paso. Efectivamente, es natural que esto suceda, de ahí que siempre el delincuente deja lo que ha dado en llamarse su "tarjeta de visita", el cual puede hallarse en el lugar de la escena como restos orgánicos o biológicos pertenecientes a la víctima o a los delincuentes. Estos restos por su naturaleza, son susceptibles a descomposición o desnaturalización por agentes físicos, químicos y microbiológicos del ambiente; motivo por el cual, el perito biólogo tiene que tener muy en cuenta que "El tiempo que pasa es la verdad que huye", para realizar las diligencias periciales en forma oportuna, con resultados eficaces y útiles.

La Biología Forense es la aplicación de los conocimientos de las Ciencias Biológicas en la Criminalística, mediante el estudio sistemático de las huellas o indicios biológicos dejados por el autor o víctima, para identificar los indicios objetivos del hecho delictuoso, determinar su relación con éste, con la finalidad de apoyar técnico científicamente en la solución de problemas policiales y judiciales. La Biología Forense, coadyuva al esclarecimiento de delitos como lesiones, homicidios, violaciones sexuales, abortos criminales, secuestros, asaltos y robos, terrorismo atentados a la salud por contaminación de alimentos y bebidas, delitos económicos, ecológicos, etc.; asimismo en la identificación de personas o cadáveres desaparecidos en desastres, mediante análisis de manchas de sangre, semen, pelos, restos de tejidos orgánicos, secreciones y excreciones orgánicas en prendas de vestir, instrumentos materia del delito, en personas, cadáveres y en el lugar de los hechos; identificación de restos y especímenes animales y vegetales relacionados con hechos delictuosos, exámenes microbiológicos y parasitológicos en alimentos, bebidas, muestras ambientales y otros exámenes especiales biológicos; interviene también en la identificación de autores del crimen, personas o cadáveres desaparecidos en desastres y en la solución de casos de filiación y paternidad, mediante la determinación de la huella genética de individuos por estudio del ADN (Ácido Desoxirribonucleico). (MOLINA, 2008)

Sabemos que la Biología Forense es una rama muy importante en el campo de la Criminalística, encargándose del estudio sistemático de las huellas, rastros, indicios o evidencias biológicas dejados por el autor o la víctima en la escena del crimen, con la finalidad de establecer la relación de éstos con el hecho, apoyando así en forma técnica y científica al esclarecimiento de problemas policiales y judiciales. Aplicación de las ciencias naturales (ej. biología molecular, genética, bioquímica, serología, etc.) a la investigación de un crimen, dentro de este sistema es importante recalcar el papel del biólogo forense ¿qué es? ¿Qué Hace? ¿Cuales son sus funciones?, bien el biólogo forense es el investigador científico entrenado en las ciencias biológicas, que examina y evalúa los indicios o evidencias de la comisión de un hecho delictuoso.

Se tiene tres alcances dados en esta área: En lo civil que nos permite la determinación de la paternidad, fertilidad y filiación.

En lo penal: La determinación de las causas de muerte por acción de agentes químicos que producen envenenamiento. La biología forense se ocupa de diferentes áreas: Hematología (sangre); Espermatología (semen); Tricología (Pelos); Microbiología e inmunología. Análisis especiales como son: Uñas: sangre, mugre, etc. (FGE, 2014)

2.2.22 Características

Características del Laboratorio

La característica fundamental de un laboratorio es presentar condiciones ambientales especialmente controladas y normalizadas con la estricta finalidad que ningún agente externo pueda provocar algún tipo de alteración o desequilibrio en la investigación que se lleva a cabo allí, asegurándose así una exhaustiva fidelidad en términos de resultados. La temperatura, la humedad, la presión atmosférica, la energía, el polvo, la tierra, las vibraciones, el ruido, entre otros, son las cuestiones sobre las cuales más hincapié se hará, para que estén absolutamente controladas y no contradigan la normalidad necesaria y exigida.

Un laboratorio es un lugar físico que se encuentra especialmente equipado con diversos instrumentos y elementos de medida o equipo, en orden a satisfacer las demandas y necesidades de experimentos o investigaciones diversas, según el ámbito al cual pertenezca (INTERIOR, 2016)

2.2.23 Importancia

Los laboratorios de Biología Forense a nivel nacional, son muy importantes ya que aquí se realizan análisis preliminares para determinar si en los elementos materiales probatorios remitidos por las autoridades investigativas o que provienen de un reconocimiento médico legal sexológico, se detecta la presencia de espermatozoides y/o semen, empleando técnicas que permiten la visualización de espermatozoides y otros fluidos biológicos.

Actividades esenciales de los Laboratorios Forenses

- La recuperación de evidencias
- El análisis científico de la evidencia el cual ocurre en el Laboratorio.
- El laboratorio forense y sus peritos buscan respuestas por medio del análisis científico de los materiales de pruebas físicas reunidas principalmente de las escenas de crímenes, de las víctimas y de los sospechosos.

Procedimientos de calidad de los Laboratorios

- Prevención de la contaminación. El científico debe probar que los procedimientos utilizados previenen la transferencia de material entre dos fuentes.
- La seguridad de la evidencia debe asegurarse registrando el nombre de todas las personas que tuvieron contacto con la misma.
- Record detallado de cada etapa de los exámenes del Laboratorio que aseguren que los resultados son asignados correctamente
- Todos los métodos y procedimientos utilizados por el científico deben estar completamente documentados.
- Los laboratorios forenses normalmente tienen compendios detallados de los métodos y procedimientos que son seguidos en sus pericias.

• La fuente final de aseguramiento es la competencia e integridad del individual

Los Científicos Forenses juegan un papel central en el sistema de justicia criminal, proveyendo información crucial acerca de la evidencia para el juzgador de un hecho. Debido a que el trabajo que ellos hacen, tanto en la escena del crimen como en el laboratorio, frecuentemente debe ser usado en Corte, es especialmente importante que el entrenamiento y educación de los científicos forenses provean una sólida formación científica y una base amplia en Criminalística. (PEROZZO, 2014)

2.2.24 El rol de los Laboratorios Forenses en los procesos judiciales

Una de las primeras resoluciones que los investigadores deben tomar en la escena de un delito es determinar qué pruebas son de relevancia para el caso y cuáles conviene descartar. Esto se basa en el hecho de que no es viable analizar todo lo que se encuentra en el sitio, o destinar tiempo a analizar pruebas que carecen de importancia para resolver el caso judicial. Por otro lado, si las muestras que llegan al laboratorio no son suficientes o han sido mal colectadas, el químico forense podrá hacerse presente en el lugar del crimen para extraer más evidencias susceptibles de ser analizadas.

Trabajo con muestras en un laboratorio; las condiciones en las cuales fueron obtenidas las muestras por parte del personal policial y sanitario pueden influir en los resultados finales. Otros factores tienen que ver con la rapidez con que se obtiene el material a examinar: cuando se presume que existió consumo de drogas, las muestras de sangre y orina deben recogerse lo antes posible. Lo mismo ante un posible asalto sexual donde es necesario obtener importante evidencia para poder determinar la naturaleza del mismo e identificar al agresor. La utilidad de los datos obtenidos a través de los estudios analíticos depende de las medidas que se hayan tomado para asegurar el control de la calidad de las muestras (obtención, transporte y conservación), hasta que son recibidas por el laboratorio forense.

El cuidado de la cadena de custodia resulta fundamental a efectos de garantizar la correcta remisión del material a analizar por el químico forense. Para esto, es de especial relevancia respetar la cadena de frío en el caso de muestras que deban refrigerarse para ser conservadas y trasladadas al laboratorio. Lo mismo ocurre en lo referente a la conservación de muestras a determinada temperatura para evitar la putrefacción y la consecuente pérdida de información crucial en la investigación.

En lo que concierne fármacos, algunos depresores del sistema nervioso central generan diversas dificultades para ser analizados debido a que pueden haber sido administrados o consumidos en dosis muy bajas como para ser detectados. Asimismo, la farmacocinética de algunos medicamentos varía y pueden demorar en

metabolizarse por lo cual se vea retrasada la manifestación de ciertos compuestos en los resultados de laboratorio. Esto último representa un problema dado que la velocidad de metabolización en ciertas drogas (alcohol incluso) y en determinados individuos, puede generar inconvenientes para establecer la hora precisa de exposición o ataque.

- Cuando corresponda una declaración de que los resultados sólo están relacionados con los objetos analizados. (JUDICATURA, 2011)

2.2.25 LEVANTAMIENTO Y EMBALAJE DE LOS INDICIOS.

2.2.25.1 Levantamiento:



Figura 9. Levantamiento de indicios
Fuente: Google

Después del examen exhaustivo y minucioso del lugar, y de la fijación de los indicios por todos los medios correspondientes para el caso, se procederá al levantamiento de los indicios

En este proceso se utilizan las manos enguantadas y auxiliares mediante pinzas con sus puntas de goma, soluciones, contenedores que van desde los sobres de papel, hasta recipientes de cristal estéril, evitando de esta manera agregar artefactos o contaminaciones que alteren a los indicios que puedan alterar los resultados de

laboratorio, anotando su localización mediante el sistema cartesiano de coordenadas en relación con el plano o bosquejo que los sustenta.

-Acción de orden técnico que tiene como principio la recolección y conservación de los indicios localizados en el lugar de la investigación, sin contaminar, transformar o modificar la naturaleza de los mismos, con el objeto de mantener su integridad para su posterior estudio y análisis. Por ello deberán observarse las siguientes reglas:

- 1.- Si hay el riesgo de que el indicio pueda alterarse o destruirse, deberá procederse con toda la rapidez posible sin detrimento de la calidad de la técnica apropiada.
- 2.- Antes de tocar el indicio, deberá de fijarse por los medios pertinentes.
- 3.- Se deberá indicar el sitio preciso donde fue levantado el indicio.
- 4.- Cada indicio deberá levantarse por separado.
- 5.- El indicio debe tratarse con toda la técnica y metodología para su protección, recolección y embalaje. Un manejo inadecuado conduce a su contaminación, deterioro o destrucción.
- 6.- Se debe evitar contaminar el indicio con los instrumentos que se utilicen para su levantamiento, los cuales deben de ser descontaminados antes y después de usarse.
- 7.- El indicio debe manipularse solamente lo necesario, con el fin de no alterarlo o modificarlo, para no impedir su adecuado estudio.

Puede sufrir cambios por:

1. Cambios climatológicos: Lluvia, polvo, sol
2. Accidentales: Provocados, por beneficio
3. Físicas: Propio de los investigadores

Los indicios puede sufrir modificaciones por:

- a. Pérdida mecánica, como podría ser polvo fino a través de un agujero en el recipiente o fisura en un sobre.
- b. Por evaporización o escape de un líquido de un recipiente sin tapa o mal cerrado.
- c. Por contaminación química o bacteriológica, debido al uso de recipientes sucios.
- d. Por cambios resultantes de mesclar muestras provenientes de varios orígenes, cuando se utiliza un envase común.

2.2.25.2 Embalaje



Imagen 24 Conservación y embalaje de evidencias
Fuente: fotografía tomada por los investigadores en el lugar de la indagación

Criminalísticamente se entiende por embalaje "la maniobra que se hace para guardar, inmovilizar, proteger y preservar un indicio, dentro del algún recipiente protector". El fin primordial del embalaje es individualizar y garantizar la integridad del elemento probatorio material y una vez que se procedió a su respectivo levantamiento se protege en recipiente adecuado para evitar algún tipo de contaminación o alteración, de manera que los resultados que se obtengan de los mismos no puedan ser objeto de algún tipo de cuestionamiento.

El embalaje presenta la siguiente estructura:

a) **Embalaje interno:** tiene como objetivo que el indicio material no sea objeto de algún tipo de contaminación, pérdida, alteración de sus características las cuales van a ser objeto de análisis pericial.

b) Embalaje externo: se le denomina embalaje final el cual debe estar sellado o lacrado para que constituya una garantía de la integridad legal de la evidencia física (indicio).

Es la inmovilización protegida en un contenedor sellado de todo indicio que evita su contaminación durante su transporte hasta el lugar en donde se estudiará y analizará, permitiendo una emisión de resultados confiables. Son las técnicas adecuadas y de conservación que se emplean para guardar, inmovilizar y proteger un indicio de acuerdo a la naturaleza del mismo, con el objeto de mantener su integridad para su posterior estudio y análisis.

Recomendaciones para el embalaje de indicios

- Manipular lo menos posible y siempre embalar la evidencia en forma individual (por separado), identificándolos por su tipo, característica y ubicación.
- Los materiales más recomendables para el embalaje son: sobres de papel, cajas con tapa, bolsas de primer uso o bolsa transparente con cierres herméticos, envases de plástico (esterilizados de boca ancha con tapa rosca, tubos y frascos con tapa)
- Registrar fotográficamente, siempre que sea posible, los indicios antes de su embalaje, durante el embalaje y al finalizar su embalaje y rotulado.
- Embalar los indicios inventariados en el empaque o contenedores adecuados (limpios y estériles, de tamaño apropiado), de acuerdo a las técnicas y protocolos de recolección.

Nota.- Si se trata de prendas húmedas o fragmentos de tela que contengan manchas húmedas y, no se dispone de tiempo para el secado, introducir en bolsa plástica con un rótulo que diga “INDICIO MOJADO, FAVOR PONER A SECAR INMEDIATAMENTE”

- Sellar el contenedor o embalar con la cinta establecida o con los medios adecuados que brinden seguridad y preservación tanto al embalaje como al indicio.

- Colocar la firma, nombre y cédula de ciudadanía del perito que levantó y embolsó la muestra sobre el sello de seguridad.

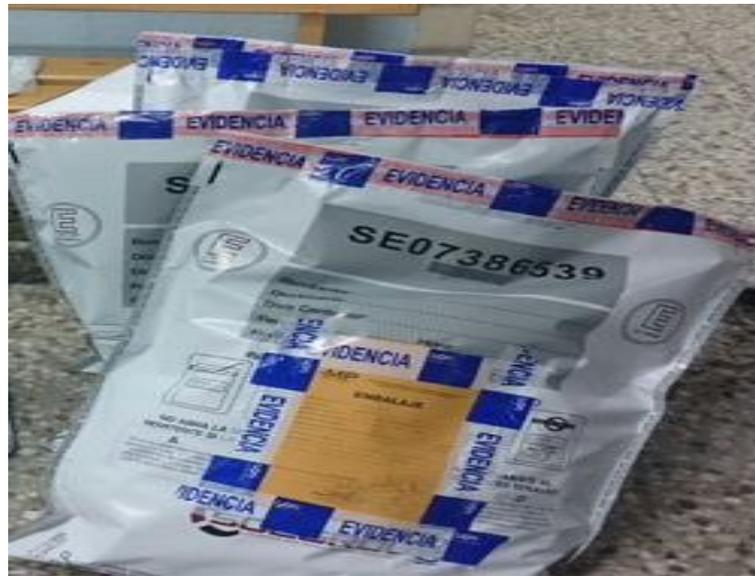


Figura 10. Embalaje de indicios
Fuente: Google

RECURSOS NECESARIOS PARA EL EMBALAJE



Figura 11. Materiales para el Embalaje
Fuente: Google

Para realizar el embalaje de muestras se necesita los siguientes recursos:

- Hoja para toma de datos
- Tiras de identificación de evidencias (fecha/ número)
- Bolsas de contenido
- Sobres de recolección de evidencias
- Bolsas para ropa exterior
- Bolsas para ropa interior
- Cinta roja vinillo autoadhesiva
- Sellos de integridad de evidencia color rojo
- Par de guantes látex
- Peinilla mediana
- Hisopos estériles Corta uñas para adultos
- Campo de papel blanco para recoger evidencias
- Gorro tipo cirujano descartable
- Bata para paciente descartable
- Bata para médico descartable

Fluidos orgánicos: La toma correrá a cargo del experto en Química, pero cuando el caso lo requiera, el Criminalista debe hacerlo empleando pipetas Pasteur, jeringas sin aguja o hisopos de algodón, colocándose el indicio en bolsas de plástico o frascos con tapa de plástico o vidrio.

Ropas: Si estas se encuentran empapadas de algún líquido (sangre, gasolina, etc.), deberán dejarse secar a temperatura ambiente en un lugar cerrado seco y ventilado, colocándose posteriormente en bolsas de papel para su traslado de Química o de Balística. Si se presenta un orificio o un desgarró deberá protegerse el daño doblando la prenda por sus extremos y colocando en media una hoja seca de papel, para posteriormente embolsarse

Recolección de material extraño: ropa exterior y ropa interior

Desdoble y coloque sobre el piso medio pliego de papel bond blanco, indique al examinado que se coloque de pie en el centro de la hoja y retire de su cuerpo las

prendas con cuidado. Recoja todos los elementos a medida que los va retirando y guárdelos en un sobre de papel por separado. Rotule y selle los sobres con cinta de seguridad, introdúzcalos en una bolsa plástica transparente y séllela con cinta de seguridad. Doble la hoja de papel sobre la cual se paró el examinado de manera que no se pierda el material extraño y colóquela en una bolsa de papel; rotule y séllela con cinta de seguridad, introdúzcala en una bolsa plástica y séllela con cinta de seguridad

Tenga en cuenta las siguientes precauciones:

- Si las prendas de vestir se encuentran mojadas por fluidos biológicos u otros materiales, déjelas secar previamente a temperatura ambiente.
- No haga ningún corte por los orificios, rasgaduras o manchas que pueda tener la prenda; no sacuda la prenda.
- Si la persona examinada no lleva la misma ropa que tenía durante los hechos, informe a la autoridad competente.
- Si la víctima trae las prendas que tenía durante los hechos, recíbalas y empáquelas siguiendo las recomendaciones ya descritas. Describa en el informe sobre esto.

Recolección de otros elementos

Toallas higiénicas/papel higiénico, si se encuentran húmedos déjelos secar a temperatura ambiente. Una vez secos empáquelos en bolsas de papel mediano, cada elemento por separado. Selle con cinta de seguridad, rotule e introdúzcalos en una bolsa de plástico transparente, sellándola con cinta de seguridad. Informe si la víctima tiene sangrado menstrual.

Condón, tome un frontis de la parte exterior con un hisopo humedecido con 2 o 3 gotas de agua estéril, déjelo secar a temperatura ambiente y empáquelo en las cajas para hisopos, rotule y cierre la caja con cinta de seguridad.

En Delitos Sexuales:

1. Cuatro tomas bucales mediante hisopos, pasando por debajo de la lengua, encías y dientes.
2. Búsqueda de manchas de semen, saliva o mordeduras: según se indicó anteriormente.
3. Cuatro tomas cervicales, cuatro tomas vaginales y cuatro de genitales externos, con hisopos estériles limpiando cuello uterino, cavidad vaginal y la región vulvar.
4. Lavado vaginal, empleando 10 ml de suero fisiológico que se recogerá en un frasco o tubo de plástico.
5. Cuatro tomas anales, con hisopos estériles limpiando el conducto ano-rectal y el margen anal.
6. Ropas que portaba la víctima: guardar en bolsas de papel por separado.

Fluidos biológicos en estado seco (manchas) determinar tipo de soporte:
Transportable se traslada al laboratorio en el soporte en el que se encuentre

No transportable; se toma la muestra en alguna de las formas: Frotando la superficie de la mancha con un hisopo humedecido con agua estéril, y deberá dejarse secar antes de guardar en bola de papel. Si recupera a través de un raspado con espátula, el polvo obtenido deberá guardarse en un contenedor.

La protección de manchas de semen

Debe haber un manejo diligente, evitando fricción, roce u otro, que puede llegar a la fractura de la célula, por ende no perder un importante indicio debiendo observarse lo siguientes detalles:

- Cuando las manchas se encuentran en prendas (ropas, sábanas, fundas, almohadas, toallas) se colectara toda pieza evitando dobleces y fricciones en las áreas manchadas.

- Cuando existan manchas secas o frescas y se encuentran en superficies de objetos grandes (pisos, paredes, muebles) que dificultan su transporte se puede coleccionar la mancha con el uso de agua destilada humedecida en papel filtro.
- Cuando el material seminal se encuentre en cavidades u orificios naturales como la vagina, el recto, se procederá a coleccionar muestras mediante un hisopado vaginal o rectal.
- Cuando el material seminal no pueda ser enviado inmediatamente a laboratorio, el soporte que lo contiene, será secado a temperatura ambiente antes de su embalaje.
- Cuando las muestras frescas que se hallen en gran cantidad deberán coleccionarse y ser colocados en tubos de ensayo mediante el uso de pipetas y ser conservadas refrigeradas.

Los rastros de semen

Para los rastros de semen sobre los cadáveres o las víctimas de los delitos como la violación se deben tomar en cuenta:

- El análisis de ropa (exterior e interior), la posición, orden, signos de violencias, manchas de semen, forma y situación, presencia o ausencia de ciertas prendas de vestir, lo que nos permite obtener datos valiosos para reconstruir el hecho del delito.
- Estudio y análisis del cuerpo, disposición de los cabellos, aspecto del órgano genital de la víctima, regiones del cuerpo circundante que pueden presentar equimosis, cabellos arrancados, restos de epidermis del agresor en las uñas, la presencia de manchas de semen, todo esto nos ayudara a identificar la violencia empleada por el agresor al momento de perpetrar el delito sexual.
- Exámenes de los orificios naturales como la vulva, ano y boca.
- La cantidad y posición de las manchas de semen, lo que nos puede indicar la posición del cadáver o la víctima en el momento de producirse el hecho delictivo.

Cuidado de las evidencias seminales

- a. En materiales porosos o absorbentes, se presentan de color grisáceo, que cuando envejecen se tornan amarillentos, presentan bordes irregulares (a manera de mapa geográfico) y si el soporte es flexible adquieren una consistencia apergaminada o acartonada al tacto y en lo posible se deberán remitir con su soporte o en caso contrario se recogerán las muestras con ayuda de hisopos de algodón estéril, empapados en agua destilada y luego secados al ambiente.
- b. En materiales compactos, no absorbentes, dejan un depósito constituido por una película de escamas brillosas – costrosas, en estos casos se pueden raspar y retirarlos de la superficie sobre la cual están adheridos y guardarlos en sobres de papel nuevo y limpio.
- c. En la piel forma débiles películas brillantes de aspecto barnizado, las cuales pueden retiradas con una pinza limpia o un raspadas con un bisturí nuevo y limpio y guardados en sobres de papel nuevos y limpios.
- d. Las muestras que deben enviarse para estudio:
 - ✓ Prendas de vestir de la víctima
 - ✓ Prendas de vestir del sospechoso o persona incriminada
 - ✓ Prendas de cama
 - ✓ Hisopo o líquidos del LAVADO VAGINAL, RECTAL O BUCAL (en el caso de la persona de sexo femenino) o en su defecto solicitar examen bio-forense en la persona, para la toma de la muestra adecuada.
 - ✓ Hisopo o líquidos del LAVADO BALANO PREPUCIAL O RECTAL (en el caso de la persona de sexo masculino) o en su defecto solicitar examen bio-forense en la persona, para la toma de la muestra adecuada.
 - ✓ Condones, con datos referentes a donde se los encontró, condiciones de recolección y marca.
 - ✓ Papel higiénico, que hayan sido utilizados luego del delito



Figura 12 Tipos de indicios
Fuente: Google (Tipos de indicios)

e. Para la remisión de muestras:

- Todos los indicios deben embalsarse secos, para evitar su descomposición o detrimento.
- Deben tener un embalaje de papel, en el cual se incluya un sólo indicio, para prevenir la contaminación por contacto con otros indicios.

1.- Rotular con bolígrafo de tinta indeleble, de manera concisa, precisa y exacta con letra clara, legible y comprensible, su contenido, debe ajustarse a la información verdadera y no debe tener enmendaduras, ni tachaduras.

2.- Identificar en el rótulo del indicio o evidencia material levantada los siguientes datos:

- Fecha (número arábigo, en consecuencia: DD/MM/AAAA)
- Hora (en formato de 00:00 hasta 24:00)

- Dirección del lugar de Sujeto a investigación (hechos o hallazgo)en donde fue recolectado el indicio
- Número de indicio
- Ubicación exacta dentro del lugar sujeto a investigación
- Clase de Indicio o evidencia material
- Descripción del Indicio o evidencia material
- Observaciones (condiciones especiales de manejo, transporte o almacenamiento para evitar su deterioro o alteración)
- Nombre, firma y número de cédula del Perito que recolectó la evidencia

3.- Salvaguardar los indicios o evidencias de la tal manera que el sello de seguridad diligenciado se adhiera en los puntos de cierre de los mismos a fin de evitar alteraciones de su contenido, de tal forma que al abrirlo se rompa.

4.- Fotografíar los indicios embalados y rotulados sobre la sábana de evidencias. (FGE, SISTEMA ESPECIALIZADO INTEGRAL DE INVESTIGACIÓN, DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES INSTRUCTIVO PARA LA TOMA DE MUESTRAS BIOLÓGICAS, 2014)



Figura 13 Embalaje
Fuente: Google (Embalaje de indicios Biológicos)

Envío de muestras y evidencias a los laboratorios del Instituto de Investigaciones forenses

Una vez concluido la recolección de material y toma de elementos se envía las muestras y evidencias a los laboratorios del Instituto de Investigaciones Forenses bajo un control y cumplimiento estricto de la cadena de custodia, de forma inmediata a la colección, con su correcto etiquetado y embalado.

2.2.26 CADENA DE CUSTODIA

2.2.26.1 Concepto de cadena de custodia:

La cadena de custodia es el conjunto de medidas que deben adoptarse a fin de preservar la identidad e integridad de objetos o muestras que pueden ser fuente de prueba de hechos criminales, para su total eficacia procesal. Durante todo el proceso investigativo, desde que se produce la colección hasta su valoración por parte de la autoridad competente. “Debe garantizar que el elemento de prueba o evidencia que se presenta en juicio, no haya sufrido adulteraciones o modificaciones por parte de quienes lo entregan”.

2.2.27 Objetivo

El objetivo primordial de este proceso radica en el hecho de que el indicio o elemento probatorio deberá mantener todas y cada una de las características inherentes al lugar del cual ha sido recuperado, de manera inalterable, para que el especialista en el laboratorio pueda realizar los estudios correspondientes, en caso de ser necesario.

2.2.28 Responsabilidad:

Es responsabilidad de toda persona, organismos de socorro, bomberos, paramédicos, profesionales de las casas de salud, Policía Nacional y funcionarios del Ministerio Público ejecutar todas aquellas acciones y procedimientos que permitan llevar una correcta cadena de custodia.

2.2.29 Elementos de la cadena de custodia:

1. El control, nos permitirá identificar e individualizar los indicios y/o evidencias, de esta forma asegurar un seguimiento y registro de los procesos de entrega y recepción de estos elementos.
2. La seguridad, nos permitirá establecer las medidas físicas y administrativas necesarias para el resguardo de indicios y/o evidencias en lugares que reúnan las condiciones necesarias, con el propósito de evitar extravíos, hurtos, cambios, deterioros, entre otros.
3. Medidas de preservación, nos facultará a través de procedimientos idóneos, garantizar la inalterabilidad de muestras, esto es: Degradación, contaminación o destrucción, a causa de un inadecuado tratamiento de éstas, o por un incorrecto almacenamiento.

2.2.30 Casos en los que se requiere cadena de custodia

Cuando el material probatorio carece de marcas distintivas, y por lo tanto es altamente fungible (sangre, semen, drogas).

Cuando no existen testigos que le puedan identificar plenamente mediante conocimientos propios (una arma)

Cuando se deba poner mucho cuidado por el riesgo que existe de que pudiera haber un error o engaño (expediente médico).

2.2.31 Registro

El registro de la cadena de custodia consiste en el formato o formatos dentro de los cuales deberán anotarse los nombres y firmas de los servidores públicos que de manera sucesiva intervengan en la cadena desde que se hallan los indicios u objetos hasta el final del proceso. Además se debe anotar la fecha y hora de entrega y recepción del indicio y la descripción de los mismos con sus características físicas, color, peso, el lugar de los hechos o del hallazgo y todos los datos que se consideren relevantes para la averiguación previa. El registro debe tener estos datos:

- Numero de averiguación previa.
- Unidad administrativa responsable
- Número de registro
- Ubicación e identificación del lugar con croquis
- Información relativa a la víctimas, detenidos, testigos, o lo que se recabe en el lugar de los hechos o del hallazgo.
- Nombre completo, cargo y firma de los servidores públicos que han intervenido en la preservación del lugar de los hechos o del hallazgo.
- Fecha y Hora.

2.2.32 Etapas o pasos

La Cadena de Custodia se divide en seis grandes etapas

- 1.- Protección y Preservación del lugar de los hechos o escena
- 2.- Procesamiento de los Indicios o evidencias
- 3.- Envío e ingreso de indicios y/o evidencias (elementos físicos) en el centro de acopio, bodega o almacén de evidencias.
- 4.- Envío de indicios o evidencias para el análisis a los laboratorios de criminalística
- 5.- Remisión de indicios y/o evidencias (elementos físicos) al Centro de Acopio, Bodega o Almacén de evidencias.
- 6.- Manejo de las evidencias provenientes de entidades prestadoras de Servicio de Salud pública o privada.

2.2.33 Mecanismos para acreditar

- 1.- En la recolección de indicios, siempre se debe utilizar elementos de bioseguridad (embalar en los recipientes adecuados, con el fin de asegurar y conservar las características originales de los elementos físicos)

- 2.- Identificar el indicio y/o evidencia tan pronto como haya sido tomado posesión, dando a cada pieza (elemento) un número de referencia y acompañando una anotación sobre donde y cuando fue tomada en custodia (fecha y hora)
- 3.- En cada traslado o traspaso, el embalaje debe estar perfecto e íntegro (sin cortes ni alteraciones).
- 4.- El rotulado del elemento físico no debe presentar tachaduras o enmendaduras y debe identificar plenamente el elemento.
- 5.- El almacenaje de los elementos físicos debe ser en condiciones ambientales adecuadas para conservarlas características y propiedades originales y ubicándolos en el espacio apropiado para que no se contaminen entre sí.
- 6.- El formato de Cadena de custodia y el sistema de registro manual o electrónico, debe ser llevado de una manera completa y organizada identificando plenamente los traslados, la identidad de custodios y las acciones realizadas durante todo el proceso de cadena de custodia.
- 7.- Conservar un correcto inventario de indicios y/o evidencias en custodia.
- 8.- Devolver la evidencia a su propietario al final del proceso, con la documentación de descargo y la firma correspondiente de la persona que la recibe.

(ANGULO, 2015)

2.2.34 Responsables de la Cadena de Custodia

Policía Judicial.- La Policía Judicial del Ecuador es un cuerpo auxiliar de la Administración de Justicia, integrada por personal especializado de la Policía Nacional, la misma que cumple con los principios de intermediación, celeridad y eficacia, al desarrollar investigaciones pre procesales y procesales penales, de manera técnica, eficiente y oportuna. Entre los pilares fundamentales de la Policía Judicial, se encuentran: el conocimiento del Derecho Procesal Penal, básicamente los postulados del Debido Proceso y los procedimientos técnicos jurídicos de la investigación en materia penal.



Figura 14 Policía Judicial
Fuente: Archivo Diario La ora

Fiscales.- Los Fiscales conocen los casos de delitos de acción pública, que tienen fuero común, es decir donde pudieren estar involucrados ciudadanos que no ostenten cargo público alguno.

Investigadores.- Personas que indagan sobre un hecho, organizan las diferentes manifestaciones.

-Criminalistas.- Personas que analizan el material sensible significativo relacionado con un presunto hecho delictuoso con el fin de determinar, en auxilio de los órganos encargados de administrar justicia, su existencia cierta, reconstruirlo o señalar y precisar la intervención de uno o varios sujetos en el mismo.

-Técnicos especialistas.- Expertos su función es de vital importancia y va más allá de lo que comúnmente se cree, ya que de su actividad científica, observadora y creadora en el escenario del suceso, depende en gran parte el funcionamiento de casi todas las secciones del laboratorio de Criminalística.

-Perito o funcionario asignado.- El perito judicial o perito forense es un profesional dotado de conocimientos especializados y reconocidos, a través de sus estudios superiores, que suministra información u opinión fundada a los tribunales de justicia sobre los puntos litigiosos que son materia de su dictamen. Existen dos tipos de peritos, los nombrados judicialmente y los propuestos por una o ambas partes (y

luego aceptados por el juez o el fiscal), y ambos ejercen la misma influencia en el juicio.

Marco legal:

El Art. 219 de la Constitución Política de la República otorga al Ministerio Público entre otras atribuciones, prevenir en el conocimiento de las causas, dirigir y promover la investigación pre procesal y procesal penal.

Para el cumplimiento de sus funciones, el Ministro Fiscal General organizará y dirigirá un cuerpo policial especializado y un Departamento Médico Legal.

El Art. 2, inciso tercero de la Ley Orgánica del Ministerio Público dispone que la Policía Judicial esté a órdenes del Ministerio Público para el cumplimiento de sus funciones.

El Art. 4, literales b) y d) de la Ley Orgánica de la Policía Nacional, en concordancia con los artículos 54 literal c) y 56 del mismo cuerpo legal, otorga a la Policía Nacional las funciones de prevenir la comisión de delitos, investigar las infracciones penales y la aprehensión de los presuntos infractores.

El Código de Procedimiento Penal, publicado en el R. O. No. 360 del 13 de enero del 2000, en el Libro Cuarto, Título I, Capítulo I, artículos 207 al 214, determina en forma clara las funciones que debe desempeñar la Policía Judicial como órgano auxiliar del Ministerio Público y de la Administración de Justicia. (FGN, 2012)

Código de Procedimiento Penal:

El Art. 91.- La prueba material consiste en los resultados de la infracción, en sus vestigios o en los instrumentos con los que se cometió, todo lo cual debe ser recogido y conservado para ser presentado en la etapa del juicio y valorado por los tribunales de justicia.

El Art. 209, inciso sexto, determina que corresponde a la Policía Judicial, preservar los vestigios del delito y los elementos materiales de la infracción a fin de que los peritos puedan reconocerlos y describirlos de acuerdo con la ley.

El Art. 216, incisos dos y ocho, respectivamente dice que el Fiscal deberá: Reconocer los lugares, resultados, huellas, señales, armas, objetos e instrumentos conducentes a establecer la existencia del delito e identificar a sus posibles responsables, conforme a lo dispuesto en el capítulo de la prueba material. Además, disponer que la Policía Judicial recoja, custodie y preserve los objetos, documentos e instrumentos que puedan servir para asegurar las pruebas del delito y la identidad de sus autores; y cuide que tales señales no se alteren, borren u oculten. De ser posible y necesario, realizará u ordenará que se realice el levantamiento de un croquis del lugar donde se cometió el delito y se obtengan fotografías, grabaciones u otras pericias criminalísticas.

Reglamento de Policía Judicial.

El Art. 65.- Bajo la dirección de los fiscales, corresponde a los departamentos de Criminalística, acudir al lugar de los hechos para proteger la escena del delito; buscar, fijar, levantar, etiquetar las muestras dando inicio a la cadena de custodia, y analizar todos los indicios, señales o evidencias sobre un presunto hecho delictivo, de conformidad con lo establecido en el Código de Procedimiento Penal.

Según Ricardo Mora y María Sánchez; “La cadena de custodia es el sistema de aseguramiento de la evidencia física, compuesto por personas, normas y procedimientos, información, contenedores y lugares que al avalar el cumplimiento del principio de mismidad, garantiza la autenticidad de la evidencia que se recolecta y analiza, y que se exhibe en la audiencia pública del juicio oral”.

Para Benjamín Bernal “Cadena de Custodia es el sistema de seguridad que garantiza que la evidencia que llega a laboratorio para análisis es la misma que estaba en la escena explorada y que se encuentra en el mismo estado que tenía en ese sitio, igualmente que es la misma evidencia que una vez analiza es devuelta al solicitante y que se lleva a la audiencia pública del juicio, acompañada del dictamen pericial respectivo”.

De acuerdo a criterios jurídicos. La cadena de custodia es un procedimiento establecido por la normativa jurídica, que tiene el propósito de garantizar la integridad, conservación e inalterabilidad de los elementos materiales de prueba entregados a los laboratorios criminalísticos o forenses por la unidad competente a fin de analizar y obtener por los expertos técnicos o científicos un concepto pericial.

La Cadena de Custodia es el documento escrito en donde quedan reflejadas todas las evidencias de una prueba. En este documento se reflejan los movimientos y acciones ejercidas sobre el elemento físico de la prueba. Por lo señalado la cadena de custodia es un procedimiento de control que se aplica al indicio, que bien puede ser una mancha, una huella, un objeto material, es decir las señales del delito, desde su localización por parte de la autoridad hasta que la autoridad competente ordene su conclusión, se realiza este proceso con el objetivo de proteger los elemento señalados para que no sean alterados, modificados, destruidos o desaparecidos.

La Cadena de Custodia también implica que se mantendrá la evidencia en un lugar seguro, protegida de los elementos que puedan alterarla y que no se permitirá el acceso a la evidencia a personas que no estén autorizadas. Esto se logra mediante la existencia de depósitos o almacenes de evidencias especialmente habilitados que garanticen su preservación. (ASAMBLEA, 2014)

2.2.35 Criterios que inciden en la cadena de custodia

Incide el criterio de responsabilidad en cada una de las acciones de todas las personas que tengan contacto con la evidencia. Así como el profesionalismo, la discreción el razonamiento el ordenamiento y la administración. Con el propósito de demostrar la autenticidad de los elementos que servirán como prueba durante el proceso penal deberán tomarse en cuenta los siguientes criterios:

Identidad.- Distinción de los indicios como elementos probatorios a través de su descripción detallada y completa

Estado original.- Consiste en mostrar que el elemento de prueba obtenido en el lugar de los hechos es precisamente el mismo que se presenta ante el juzgador para su debida valoración jurídica.

Condición de recolección.- Consiste en levantar el indicio en las mejores condiciones de protección, cuidando los mínimos detalles de conservación para evitar dañarlo.

Embalaje.- Acción de depositar y rotular los indicios en un recipiente propio para su estado físico.

Registro.- Historial detallado de la entrega y manejo de los indicios entre el personal pericial de campo, personal pericial de laboratorio, autoridad ministerial, autoridad judicial, en un proceso continuo para garantizar la autenticidad.

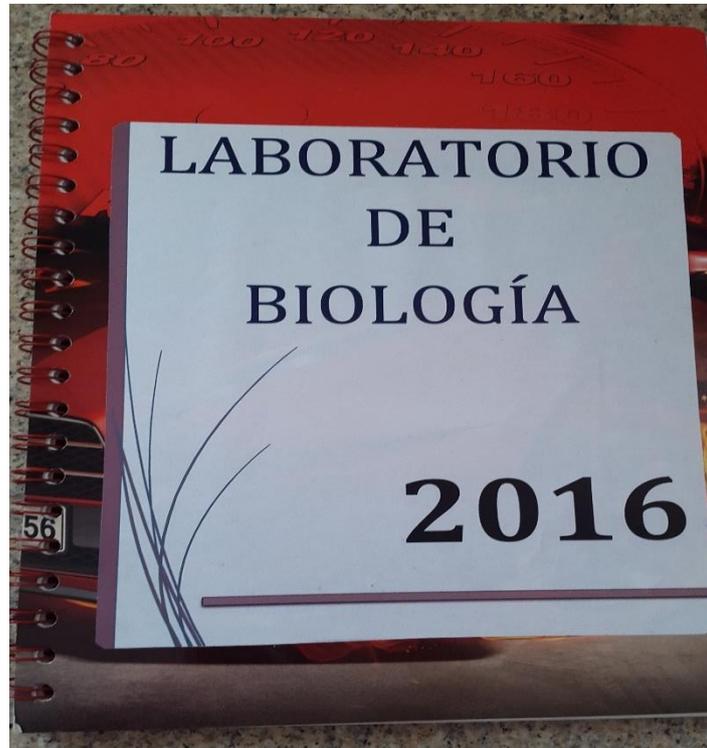


Imagen 25 Registros y resultados
Fuente: fotografía tomada por los investigadores en el lugar de la indagación



Imagen 26 Registros y archivos
Fuente: fotografía tomada por los investigadores en el lugar de la indagación

Continuidad.- La transferencia de los elementos de estudio entre el personal pericial, ministerial y judicial en proceso continuo desde el lugar de los hechos como vestigio, luego con la intervención pericial se convierte en evidencia, posteriormente en indicio y finalmente en manos judicial es transformado en prueba.

Envío.- Consiste en el traslado de los indicios al laboratorio correspondiente, donde serán entregados a personal administrativo encargado de la recepción. (ANGULO, 2015)

2.2.36 PROTOCOLO PARA LA OBTENCION DE MUESTRAS

2.2.36.1 Rotulación

Para la rotulación del envase de envío se debe usar papel engomado sobre el cual se escribirán, con letra legible, los siguientes datos:

- Nombre completo del usuario

- Número de cédula
- Identificación de pieza anatómica
- Número de contenedores
- Fecha de toma de la muestra
- Nombre del responsable de la muestra tomada.

2.2.36.2 Obtención de la muestra.

La toma de muestra de tejidos, es responsabilidad del perito médico legista como consta en el artículo 461, literal 3, del Código Orgánico Integral Penal, así como la solicitud del examen con su respectiva cadena de custodia y copia del protocolo de autopsia en caso de que se requiera. Cumpliendo con estos requisitos el Laboratorio de Histopatología conservará el código del caso recibido, y asignará un nuevo número de registro interno del laboratorio que comenzará por el 001 el 01 de enero de cada año.

La solicitud de análisis histopatológico deberá llevar los siguientes datos:

- Número de cédula del cadáver.
- Nombres y apellidos del cadáver.
- Copia del documento de identidad: cédula, partida de nacimiento, licencia de conducir u otros (si los hubiere).
- Tipo de muestra/órgano y especificando si es derecho, izquierdo, anterior, posterior, etc.
- Número de piezas.
- Número de contenedores con muestras del cadáver. Causa de muerte
- Intervención efectuada (especificar si es autopsia o usuario vivo).
- Especificar datos de historia clínica, si procede de una casa de salud.
- Adjuntar protocolo de autopsia, si procede de otra ciudad
- Número de expediente.
- Fecha de toma de muestra.
- Nombre del médico legista que realiza la toma de muestra.

NOTA:

Es importante realizar el estudio histopatológico dentro de los diez primeros días después, de haber obtenido la muestra, para evitar cambios morfológicos que podrían ocurrir aun estando la muestra en fijador bufferado. (LEGAL, 2013)

2.2.36.3 Preparación de la muestra.

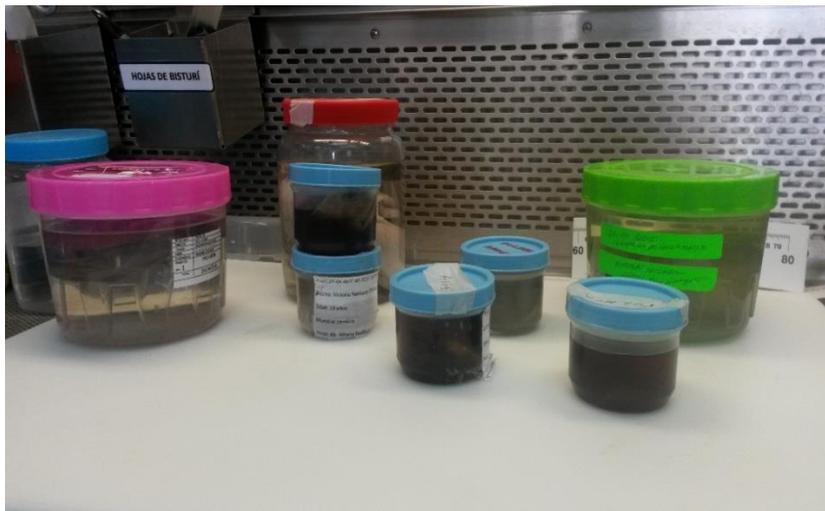


Imagen 27 Muestras (Indicios)

Fuente: fotografía tomada por los investigadores en el lugar de la indagación

- ✓ El especialista del Sistema, deberá:
- ✓ Colocar el fragmento de tejido obtenido, en un envase de vidrio o plástico transparente de boca ancha, tapa hermética, adecuado al tamaño de la pieza.
- ✓ Si la muestra es grande, se preparará en doble bolsa transparente con formalina y luego se depositará en el frasco plástico de mayor tamaño.
- ✓ Para los órganos de diámetro superior a los 4 cm se recomienda realizar múltiples cortes en secciones a lo largo de los mismos, para facilitar la preservación completa de la pieza.
- ✓ No introducir la muestra del órgano a presión dentro del envase, puesto que, cuando llegue al laboratorio ya fijado, se habrá endurecido y habrá aumentado su volumen entre un 10-20%, por lo que será extraerla. La muestra debe fijarse en formol al 10% tamponado para cualquier pieza

anat6mica. El tejido cerebral necesita ser fijado 30 d1as en un volumen de al menos 10 veces mayor. No congelar ni refrigerar los 6rganos.

- ✓ Al perito o responsable de la recepci3n de muestras en el laboratorio, se recomienda un lugar adecuado, libre del tr1nsito de personas y bien ventilado. El operador debe usar: gorro para protecci3n de cabello, mascarilla facial de medio rostro con filtro clase B seg6n la norma internacional UNE-EN 14387:2004, guantes de manejo, mandil, gafas protectoras transparentes sin color, zapatos de trabajo y ejecutar su labor bajo una campana extractora de gases debido al efecto t3xico del formol. El responsable de recibir la muestra en el laboratorio, debe comprobar que las bolsas o cajas tengan los recipientes originales, intactos y correctamente rotulados. Si la muestra procede de un lugar distinto al centro forense, el transporte debe efectuarse en medios adecuados, a fin de evitar da1os y alteraciones.

2.2.37 Traslado interno de muestras.

Para el traslado interno de muestras en el centro forense, se observar1n las siguientes recomendaciones:

Debe realizarse en un contenedor que tenga capacidad para la totalidad de los 6rganos a analizar. Por cada caso se deber1 llevar un formulario de solicitud m6dica correspondiente, registrada en el cuaderno del Departamento de Tanatolog1a designado para tal efecto. El m6dico legista que obtuvo las muestras, debe entregarlas al Laboratorio de Histopatolog1a, en un plazo no mayor a 24 horas h1biles. Los datos obtenidos en el formato f1sico, ser1n registrados adem1s en un soporte digital, (SALUD, 2012)

2.3 DEFINICION DE TERMINOS BASICOS

Abuso.- Es la ejecución de un acto sexual o la presión para ejecutarlo, sin el propósito de llegar a la cópula y sin consentimiento de la persona. Según el Código Orgánico Integral Penal ecuatoriano 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.

ABAcad P30.- prueba inmunocromatográfica para detección in vitro de P30 para la identificación forense de semen.

Antígeno Específico de Próstata (PSA).- 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. La cuantificación positiva del PSA se considera como una prueba confirmatoria de la presencia de semen.

Azoospermicos.- el hombre no tiene un nivel de espermatozoides en su semen

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, inter-cambio o destrucción.

Delito sexual.- Es una vulneración de los derechos humanos y especialmente de los derechos sexuales y reproductivos. Como concepto general es la expresión generalmente empleada para referirse a acciones que afectan a personas de cualquier

edad y sexo, CONTRA SU CONSENTIMIENTO Y QUE PERTURBAN SU DESARROLLO SEXUAL. Son conductas reprobadas social y legalmente.

Embalaje.- "la maniobra que se hace para guardar, inmovilizar, proteger y preservar un indicio, dentro del algún recipiente protector".

Estupro.- Es la realización de cópula con una persona mayor de 12 años y menor de 18, de la que se obtiene el consentimiento mediante el engaño o la seducción. El estupro es un delito sexual que se produce cuando una persona, generalmente mayor de edad, mantiene relaciones sexuales, con una persona adolescente que consiente la relación. La edad mínima y máxima varía según las legislaciones, así como las características del acto sexual.

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

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.

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.

PSA.- (antígeno prostático específico) es una glicoproteína producida en la próstata y secretada en el fluido seminal.

Técnicos especialistas.- Expertos su función es de vital importancia y va más allá de lo que comúnmente se cree, ya que de su actividad científica, observadora y creadora en el escenario del suceso, depende en gran parte el funcionamiento de casi todas las secciones del laboratorio de Criminalística.

Violación.- El Código Orgánico Integral Penal ecuatoriano en su Art. 171 manifiesta: 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 lo comete, será sancionado con pena privativa de libertad de diecinueve a veintidós años en cualquiera de los siguientes casos.

2.4 HIPÓTESIS

El estudio comparativo entre la determinación de PSA total y proteína bP30 aporta a la valoración de líquido seminal en casos forenses durante el periodo Octubre 2015 - Marzo 2016 en el Centro de Investigación de Ciencias Forenses de la ciudad de Ambato

2.5 VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN

2.5.1 Variable Independiente

Determinación de PSA total y P30

2.5.2 Variable Dependiente

Valoración del líquido seminal en casos forenses.

2.6 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLES	DEFINICIONES			TECNICAS
	CONCEPTUALES	CATEGORIAS	INDICADORES	E INSTRUMENTOS
<p>Variable Independiente:</p> <p>Determinación de PSA total y P30</p>	<p>-Glicoproteína producido con el fin de licuar el semen eyaculado</p> <p>-Es un marcador aceptado para la detección de líquido seminal en casos criminales incluyendo individuos vasectomizados o azoospermicos</p>	<p>P30:</p> <p>Marcador en Ciencias Forenses</p> <p>PSA :</p> <p>Uso diagnóstico de cáncer</p>	<p>Análisis Proteína P30: Presencia de Proteína P30 (Positivo).</p> <p>Análisis PSA total: Presencia de PSA (Positivo).</p>	<p>TÉCNICA:</p> <p>Observación</p> <p>Instrumento:</p> <p>Resultado de Análisis</p>
<p>Variable Dependiente:</p> <p>Valoración del líquido seminal en casos forenses.</p>	<p>Acciones que afectan a personas de cualquier edad y sexo, contra su consentimiento y que perturban su desarrollo sexual.</p>	<p>Violación</p>	<p>Reconocimiento Médico legal</p>	<p>TÉCNICA:</p> <p>Observación</p> <p>Instrumento:</p> <p>Resultado de Análisis</p>

CAPÍTULO III

3 METODOLOGÍA

3.1 Método Científico

Este método o procedimiento constituye base fundamental para la investigación ya que permitió la observación sistemática, medición, experimentación, la formulación, análisis y modificación de las hipótesis. El método científico es un proceso destinado a explicar fenómenos, establecer relaciones entre los hechos y enunciar leyes que expliquen los fenómenos físicos del mundo y permitan obtener con estos conocimientos, estudios útiles. Se utiliza en la investigación porque permite: observar, plantear el problema, formular la hipótesis, comprobar experimentando, registrar, datos y analizar resultados para confirmar la hipótesis.

3.2 Tipo de investigación

Se realizó una investigación **bibliográfica** por que permitió obtener información de la búsqueda ordenada a nivel documental en la consecución de una visión conceptual de los elementos que intervienen en ella, recopilando referencias de libros, revistas, artículos de la web, información que fue analizada, sintetizada y comparada para alcanzar los objetivos planteados.

De **Campo** porque se realizó el estudio en el lugar de los hechos con estudios situacionales lo que permitió detallar características de una población y una muestra obtenida de los casos que requerían el estudio comparativo entre la determinación de PSA total y P30 para la valoración del líquido durante el periodo octubre 2015-marzo 2016 en el Centro de Investigación de Ciencias Forenses de la ciudad de Ambato.

3.3 Tipo de estudio

El tipo de estudio a realizar en la presente Investigación en función de información que se espera obtener del análisis será: Exploratorio, Descriptivo, Explicativo

Estudio Exploratorio.- Se usa para reconocer el problema de investigación.Cuál es la importancia del estudio comparativo entre la determinación de PSA total y P30 para la valoración del líquido seminal en casos forenses durante el periodo Octubre

2015 – Marzo 2016 en el Centro de Investigación de Ciencias Forenses de la ciudad de Ambato. A demás permite construir el marco teórico referente a: laboratorio forense, criminalística, el delito sexual, definición y procesos de las técnicas P30 y PSA total.

Estudio descriptivo.- Porque permite describir los casos presentados y el estudio realizado a cada uno, facilita la identificación de las características de la muestra tomada para la investigación, ejecutando continuamente la relación de las variables, para verificar su comportamiento.

3.4 POBLACIÓN y MUESTRA

3.4.1 Población

La presente investigación está constituida por un total de 88 ensayos de determinación de Proteína P30 y PSA

3.4.2 Muestra

En esta investigación se trabajará con el total de la población

3.5 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS

Observación.- Se hará una observación no participante e individual, estructurada y planificada.

Libreta de notas y diario de observación de campo.- Se utilizará una libreta con el fin de escribir datos, comentarios, opiniones de interés, lugares, fechas, etc.

Cuadros de Excel

3.6 Técnicas para el proceso y análisis de datos

En los meses de Octubre, Noviembre y Diciembre de 2015 y Enero, Febrero Y Marzo de 2016 se realizó una indagación y varias visitas prácticas al Centro Forense de Ambato para examinar el número de casos forenses, se aplicó las técnicas de “P30” y “PSA” realizando el estudio a 88 evidencias, demostrando si los resultados “P30” Y “PSA” son Positivos o negativos para mayor entendimiento y comprensión de lo expuesto anteriormente se anexa la siguiente tabla.

Tabla de Resultados. Centro de Investigación Forense Ambato (Resultados y análisis de “P30” y “PSA”)

N°	PROVINCIA	P30	PSA
1	Chimborazo	POSITIVO	POSITIVO
2	Tungurahua	POSITIVO	NEGATIVO
3	Chimborazo	NEGATIVO	NEGATIVO
4	Chimborazo	POSITIVO	NEGATIVO
5	Tungurahua	NEGATIVO	POSITIVO
6	Tungurahua	POSITIVO	NEGATIVO
7	Tungurahua	POSITIVO	POSITIVO
8	Cotopaxi	POSITIVO	NEGATIVO
9	Tungurahua	POSITIVO	NEGATIVO
10	Tungurahua	NEGATIVO	POSITIVO
11	Cotopaxi	NEGATIVO	NEGATIVO
12	Chimborazo	POSITIVO	NEGATIVO
13	Bolívar	NEGATIVO	POSITIVO
14	Chimborazo	POSITIVO	NEGATIVO
15	Chimborazo	NEGATIVO	NEGATIVO
16	Cotopaxi	POSITIVO	POSITIVO
17	Tungurahua	NEGATIVO	POSITIVO
18	Chimborazo	POSITIVO	NEGATIVO
19	Bolívar	POSITIVO	NEGATIVO
20	Bolívar	NEGATIVO	NEGATIVO
21	Tungurahua	POSITIVO	NEGATIVO
22	Tungurahua	POSITIVO	POSITIVO
23	Tungurahua	POSITIVO	NEGATIVO
24	Tungurahua	NEGATIVO	NEGATIVO
25	Chimborazo	POSITIVO	POSITIVO
26	Chimborazo	POSITIVO	POSITIVO
27	Chimborazo	POSITIVO	NEGATIVO
28	Cotopaxi	NEGATIVO	NEGATIVO
29	Chimborazo	POSITIVO	POSITIVO
30	Chimborazo	NEGATIVO	NEGATIVO
31	Chimborazo	POSITIVO	NEGATIVO
32	Chimborazo	NEGATIVO	POSITIVO
33	Cotopaxi	NEGATIVO	NEGATIVO

34	Chimborazo	POSITIVO	NEGATIVO
35	Tungurahua	NEGATIVO	NEGATIVO
36	Tungurahua	POSITIVO	POSITIVO
37	Chimborazo	POSITIVO	POSITIVO
38	Tungurahua	POSITIVO	NEGATIVO
39	Tungurahua	NEGATIVO	POSITIVO
40	Tungurahua	POSITIVO	POSITIVO
41	Chimborazo	POSITIVO	NEGATIVO
42	Chimborazo	POSITIVO	POSITIVO
43	Bolívar	NEGATIVO	NEGATIVO
44	Tungurahua	POSITIVO	NEGATIVO
45	Chimborazo	NEGATIVO	POSITIVO
46	Tungurahua	POSITIVO	NEGATIVO
47	Chimborazo	NEGATIVO	NEGATIVO
48	Tungurahua	POSITIVO	NEGATIVO
49	Bolívar	NEGATIVO	NEGATIVO
50	Bolívar	POSITIVO	NEGATIVO
51	Tungurahua	POSITIVO	POSITIVO
52	Tungurahua	NEGATIVO	POSITIVO
53	Tungurahua	POSITIVO	NEGATIVO
54	Chimborazo	POSITIVO	POSITIVO
55	Chimborazo	POSITIVO	NEGATIVO
56	Chimborazo	POSITIVO	NEGATIVO
57	Bolívar	POSITIVO	POSITIVO
58	Tungurahua	POSITIVO	NEGATIVO
59	Tungurahua	NEGATIVO	POSITIVO
60	Bolívar	NEGATIVO	NEGATIVO
61	Tungurahua	POSITIVO	POSITIVO
62	Tungurahua	POSITIVO	NEGATIVO
63	Chimborazo	NEGATIVO	NEGATIVO
64	Chimborazo	NEGATIVO	POSITIVO
65	Bolívar	POSITIVO	POSITIVO
66	Chimborazo	POSITIVO	NEGATIVO
67	Tungurahua	POSITIVO	POSITIVO
68	Chimborazo	POSITIVO	NEGATIVO
69	Tungurahua	NEGATIVO	POSITIVO
70	Chimborazo	POSITIVO	NEGATIVO
71	Chimborazo	POSITIVO	NEGATIVO
72	Chimborazo	NEGATIVO	POSITIVO

73	Bolívar	POSITIVO	POSITIVO
74	Chimborazo	NEGATIVO	NEGATIVO
75	Tungurahua	POSITIVO	NEGATIVO
76	Chimborazo	POSITIVO	POSITIVO
77	Chimborazo	POSITIVO	NEGATIVO
78	Chimborazo	POSITIVO	NEGATIVO
79	Bolívar	POSITIVO	POSITIVO
80	Bolívar	NEGATIVO	NEGATIVO
81	Chimborazo	POSITIVO	POSITIVO
82	Chimborazo	NEGATIVO	NEGATIVO
83	Chimborazo	NEGATIVO	POSITIVO
84	Tungurahua	POSITIVO	POSITIVO
85	Chimborazo	POSITIVO	NEGATIVO
86	Cotopaxi	NEGATIVO	POSITIVO
87	Chimborazo	POSITIVO	NEGATIVO
88	Chimborazo	NEGATIVO	NEGATIVO

Fuente: Centro de Investigación de Ciencias Forenses de Ambato
Realizado por: Los Investigadores

Análisis e Interpretación:

Según la tabla anterior podemos determinar cuántos y cuáles serán los casos en donde hay “PSA” y “P30” tanto positivo (es decir existencia) y negativo (inexistencia del mismo); para lo cual se tomara de referencia el número de evidencias de la tabla de los meses en el periodo Octubre 2015 a Marzo 2016. En total existen 88 evidencias y 4 alternativas posibles:

- ⊕ “PSA” Positivo
- ⊕ “PSA” Negativo
- ⊕ “P30” Positivo
- ⊕ “P30” Negativo

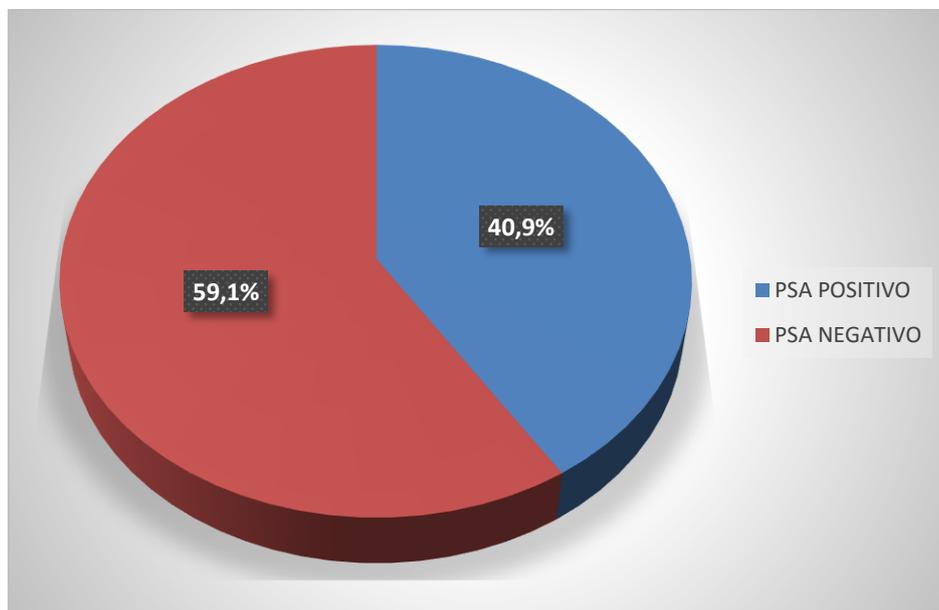
Tabulación de los Resultados Obtenidos:

Cuadro N° 1 Pruebas con “PSA”

TEST	TOTAL	FRECUENCIA	PORCENTAJE
PSA POSITIVO	36	0,409	40,9%
PSA NEGATIVO	52	0,591	59,1%
N° EVIDENCIAS	88	1	100%

Fuente: Centro de Investigación de Ciencias Forenses de Ambato
Realizado por: Los Investigadores

Gráfico N° 1 Pruebas con “PSA”



Fuente: Centro de Investigación de Ciencias Forenses de Ambato
Realizado por: Los Investigadores

Análisis e Interpretación

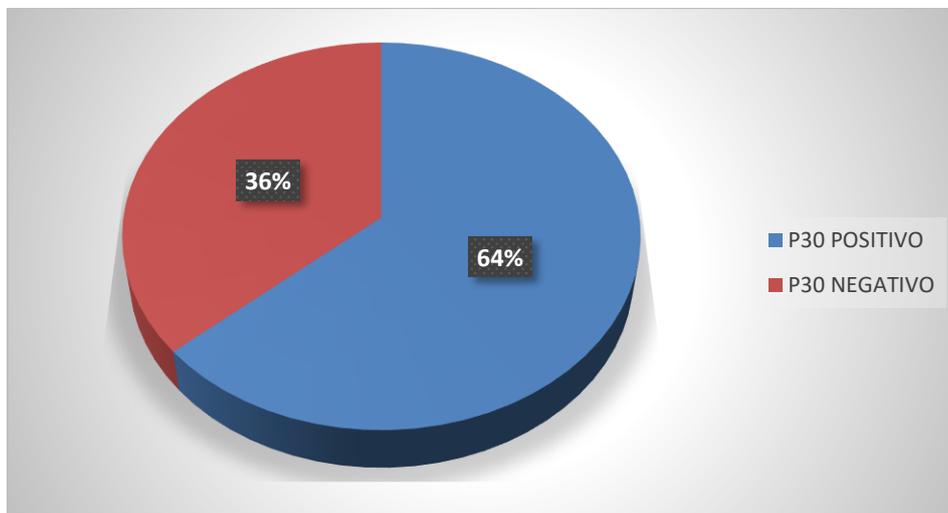
Los datos anteriores nos manifiestan que el total de evidencias es 88; y que del total de pruebas y/o evidencias realizadas un total de 36 pruebas o evidencias que representan un 40,9% del total arrojan resultados cuya información es la siguiente: Se encontró “PSA” o en otras palabras “PSA” Positivo, y 52 pruebas o evidencias que representan un 59,1% del total arrojan resultados cuya información es la siguiente: No se encontró “PSA” o en otras palabras “PSA” Negativo.

Cuadro N° 2 Pruebas con “Proteína P30”

	TOTAL	FRECUENCIA	PORCENTAJE
P30 POSITIVO	56	0,636	63,6%
P30 NEGATIVO	32	0,364	36,4%
N° EVIDENCIAS	88	1	100%

Fuente: Centro de Investigación de Ciencias Forenses de Ambato
Realizado por: Los Investigadores

Gráfico N° 2 Pruebas con “Proteína P30”



Fuente: Centro de Investigación de Ciencias Forenses de Ambato
Realizado por: Los Investigadores

Análisis e Interpretación

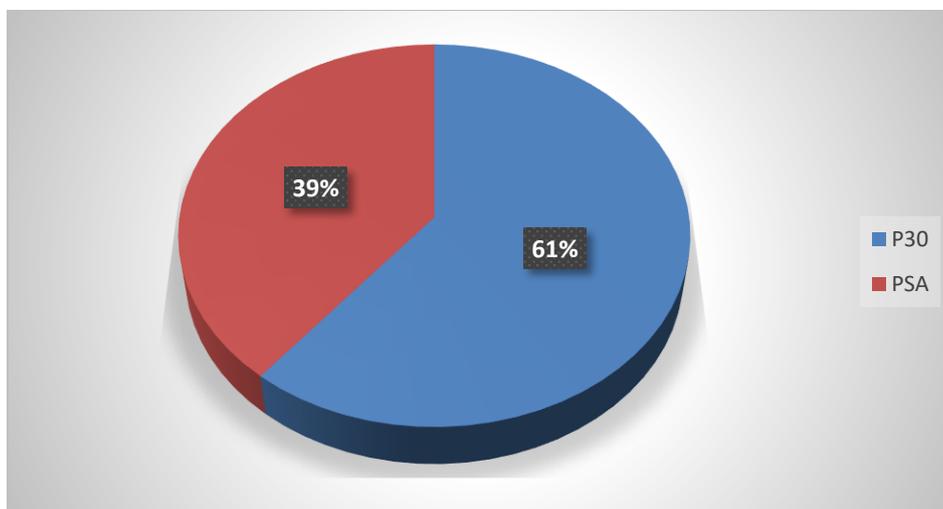
Los datos anteriores nos manifiestan que del total de pruebas y/o evidencias realizadas un total de 56 pruebas o evidencias que representan un 63,6% del total arrojan resultados cuya información es la siguiente: Presencia de “Proteína P30” o en otras palabras “P30” Positivo; lo que indica que si existe presencia de semen, en los elementos estudiados. Mientras que 32 pruebas o evidencias que representan el 36,4% del total arrojan resultados cuya información es la siguiente: Ausencia de “Proteína P30” o en otras palabras “P30” Negativo; lo que indica que no existe presencia de semen en los elementos estudiados.

Cuadro N° 3 Pruebas con “P30 - PSA” Positivo

	TOTAL	FRECUENCIA	PORCENTAJE
P30	56	0,609	60,90%
PSA	36	0,391	39,10%
Total	92	1	100,00%

Fuente: Centro de Investigación de Ciencias Forenses de Ambato
Realizado por: Los Investigadores

Gráfico N° 3 Pruebas con “P30 - PSA” Positivo



Fuente: Centro de Investigación de Ciencias Forenses de Ambato
Realizado por: Los Investigadores

Análisis e Interpretación

De los 88 casos estudiados del Centro de Ciencias Forense de Ambato con las dos técnicas empleadas el “P30” y “PSA” se han obtenido los siguientes resultados; 56 pruebas y/o indicios que representa un 60,90% del total reflejan el siguiente resultado: “P30 POSITIVO”, mientras tanto 36 pruebas y /o indicios que representan un 39,10% del total reflejan el siguiente resultado: “PSA POSITIVO”.

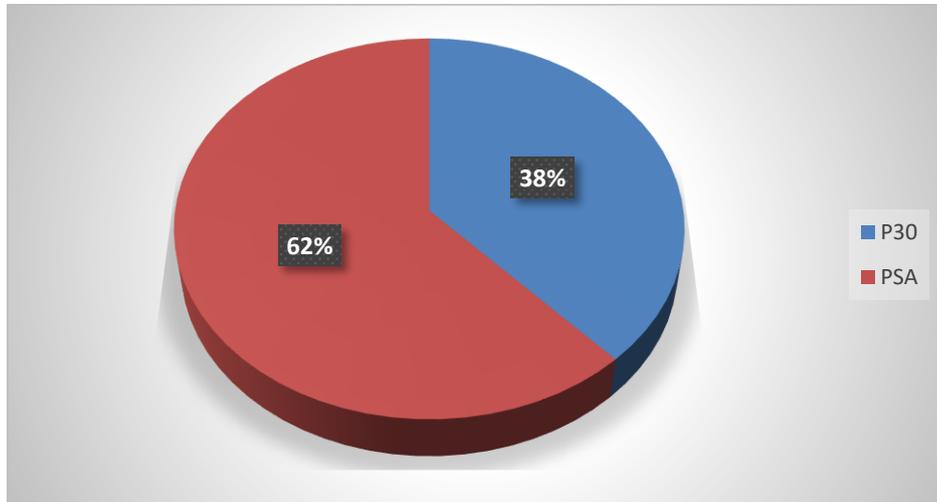
“NOTA: La sumatoria de los resultados de P30 - PSA (Positivos) da 92; número mayor al total de muestras, esto se debe a que las mismas pruebas fueron sometidas al test de “P30” y de igual manera sometidas al test de “PSA”

Cuadro N° 4 Pruebas con “P30 - PSA” Negativo

	TOTAL	FRECUENCIA	PORCENTAJE
P30	32	0,381	38,10%
PSA	52	0,619	61,90%
Total	84	1	100,00%

Fuente: Centro de Investigación de Ciencias Forenses de Ambato
Realizado por: Los Investigadores

Gráfico N° 4 Pruebas con “P30 – PSA” Negativo



Fuente: Centro de Investigación de Ciencias Forenses de Ambato
Realizado por: Los Investigadores

Análisis e Interpretación

De los 88 casos estudiados del Centro de Ciencias Forense de Ambato con las dos técnicas empleadas el “P30” y “PSA” se han obtenido los siguientes resultados; 32 pruebas y/o indicios que representa un 38,10% del total reflejan el siguiente resultado: “P30 NEGATIVO”, mientras tanto 52 pruebas y /o indicios que representan un 61,90% del total reflejan el siguiente resultado: “PSA NEGATIVO”.

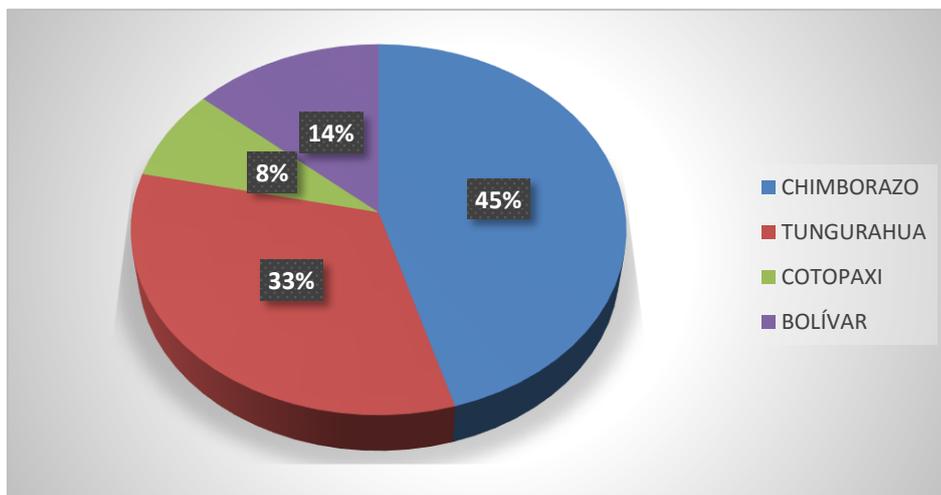
“NOTA: La sumatoria de los resultados de P30 - PSA (Negativos) da 84; número menor al total de muestras, esto se debe a que las mismas pruebas y/o evidencias fueron sometidas al test de “P30” y de igual manera sometidas al test de “PSA”

Cuadro N° 5 Ciudades con mayor incidencia de casos

	TOTAL	FRECUENCIA	PORCENTAJE
CHIMBORAZO	40	0,455	45,5%
TUNGURAHUA	29	0,330	33%
COTOPAXI	7	0,080	8%
BOLÍVAR	12	0,136	13,6
Total	88	1	100,00%

Fuente: Centro de Investigación de Ciencias Forenses de Ambato
Realizado por: Los Investigadores

Gráfico N° 5 Ciudades con mayor incidencia de casos



Fuente: Centro de Investigación de Ciencias Forenses de Ambato
Realizado por: Los Investigadores

Análisis e Interpretación

Los datos anteriores nos manifiestan que poseemos un total de 88 lugares de donde se han remitido las pruebas y/o evidencias hacia el Centro de Investigación Forense de Ambato. Y tenemos que del total de 88 lugares, 40 que representa el 45,5% pertenece a la provincia de Chimborazo, 29 que representa el 33% pertenece a la provincia de Tungurahua, 7 que representa el 8% pertenece a la provincia de Cotopaxi, y 12 que representan el 13,6% pertenece a la provincia de Bolívar. Para de esta manera establecer que el mayor número de pruebas y/o evidencias pertenecen a la provincia con más incidencia en delitos, siendo esta la provincia de “Chimborazo”

3.7 Comprobación de Hipótesis

Al realizar el estudio comparativo entre PSA total y proteína P30 en el Centro de Investigación de Ciencias Forenses de la ciudad de Ambato podemos determinar que nuestra hipótesis es verdadera ya que las dos técnicas aportan a la valoración líquido seminal aclarando que la determinación de proteína P30 es más específica.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

- Al analizar las dos técnicas (PSA Total y Proteína P30) pudimos identificar que la determinación de “Proteína P30” es más específica para la valoración de líquido seminal en el laboratorio forense.
- Reconocimos que las pruebas (PSA Total y Proteína P30) son importantes para el análisis forense ya que nos indican la ausencia o presencia de líquido seminal.
- Interpretamos que de los 88 casos estudiados en el Centro de Investigación de Ciencias Forenses de la ciudad de Ambato 56 fueron positivos y 32 negativos para la determinación de “Proteína P30”. Se aplicó a los mismos 88 casos la determinación de “PSA” y obtuvimos que 36 fueron positivos y 52 negativos.

RECOMENDACIONES

- Realizar un buen embalaje de los indicios para obtener resultados precisos los cuales ayuden a esclarecer de forma adecuada los hechos.
- Utilizar correctamente todas las normas de bioseguridad para evitar algún intercambio de ADN con los indicios.
- Verificar siempre las fechas de caducidad de los casetes (PSA total y P30) antes de realizar las pruebas.
- Mantener a una adecuada temperatura cada test (PSA total y P30) para obtener resultados cien por ciento confiables

BIBLIOGRAFÍA

- AECC, C. d. (10 de Octubre de 2015). Aecc contra el cáncer. Obtenido de <https://www.aecc.es/sobreelcancer/cancerporlocalizacion/cancerdeprostata/Paginas/anatomia.aspx>
- ANGULO, R. (2015). Cadena de Custodia en Criminalística. Colombia : Ediciones Doctrina y ley.
- ASAMBLEA. (2014). CODIGO ORGANICO INTEGRAL PENAL. Quito - Ecuador: Grafias Ayerve C.A.
- AVENDAÑO, L. (24 de Diciembre de 2012). Guía Médico Legal, evaluación física de la integridad sexual. Obtenido de http://www.mpfm.gob.pe/escuela/contenido/actividades/docs/2231_12_guia_e_v_de_integridad_sexul_ogc.pdf
- DÍAZ, G. (2010). Laboratorio de Diagnóstico Clínico. Madrid, España: Edelvives.
- DIGNIA, S. (23 de Agosto de 2012). Laboratorios Forenses. Obtenido de <http://www.dignia.com/es/laboratorios-forenses/>
- FGE. (08 de Agosto de 2014). Manuales, Protocolos, Instructivos y Formatos del SEIIMLCF. Obtenido de <http://www.fiscalia.gob.ec/index.php/sala-de-prensa/11-contenido-institucional/2412-manuales,-protocolos,-instructivos-y-formatos-del-sistema-especializado-integral-de-investigaci%C3%B3n,-de-medicina-legal-y-ciencias-forenses.html>
- FGE. (08 de Febrero de 2014). SISTEMA ESPECIALIZADO INTEGRAL DE INVESTIGACIÓN, DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES INSTRUCTIVO PARA LA TOMA DE MUESTRAS BIOLÓGICAS. Obtenido de http://www.fiscalia.gob.ec/files/archivos%20AC/COIP%20073%20FGE/Area%20de%20Cadena%20de%20Custodia/6__Instructivo_para_la_toma_de_muestras_biologicas.pdf

- FGE, M. D. (2012). Pagina de la Fiscalia. Recuperado el 15 de Enero de 2016, de FISCALIA, General del Estado: http://www.fiscalia.gob.ec/files/archivos%20AC/COIP%20073%20FGE/Area%20Ciencias%20Forenses/6__Manual_de_Procedimientos_de_laboratorio_de_Biologa_Forense.pdf
- FGN. (12 de diciembre de 2012). Manual de Procedimientos para cadena de Custodia. Obtenido de <http://www.fiscalia.gov.co/en/wp-content/uploads/2012/01/manualcadena2.pdf>
- HERRERA, F. (2015). Fiscalía completó apertura de 8 centros forenses en Ecuador. Quito: Ecuadro inmediato.
- HOCHMEISTER, E. (2009). Seratec PSA Semiquant. Alemania: Ruhstrat.
- INTERIOR, M. D. (10 de Febrero de 2016). Ministerio del Interior. Obtenido de <http://www.ministeriointerior.gob.ec/ministerio-del-interior-inauguro-moderno-laboratorio-de-criminalistica-y-ciencias-forenses-maria-eugenia-carrera-en-quito/>
- JUDICATURA, C. D. (Abril de 2011). Consejo de la Judicatura. Obtenido de http://www.funcionjudicial-pichincha.gob.ec/index.php?option=com_content&view=article&id=548%3Amoderno-laboratorio-de-criminalistica-y-ciencias-forenses-facilitara-investigaciones-judiciales-con-version-kichwa&catid=41%3Anoticias-home&Itemid=164
- LEGAL, I. D. (23 de Febrero de 2013). Normas para la recolección y manejo de evidencias. Obtenido de http://www.poderjudicial.gob.ni/pjupload/iml/pdf/IML_0010.pdf
- MOLINA, M. (2008). Biología forense, Laboratorio de Criminalística. Costa Rica: Universidad Estatal a Distancia San José.

- MONTAÑEZ, L. (20 de Octubre de 2015). Monografias.com. Recuperado el 14 de febrero de 2016, de <http://www.monografias.com/trabajos96/aparato-reproductor-masculino/aparato-reproductor-masculino.shtml>
- MONTOYA, A. (2009). Ciencia Penal .
- MONTOYA. S. Díaz, D. (s.f.). Peritaje Médico Legal en delitos sexuales .
- NIH, I. N. (2013). NIH,Análisis del Antígeno Prostático. Recuperado el 5 de ENERO de 2016, de <http://www.cancer.gov/espanol/tipos/prostata/hoja-informativa-psa>
- PEDRIQUE, M. (15 de Marzo de 2008). Reacciones antígeno anticuerpo. Obtenido de http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedraMicro/08_Tema_10_Reacciones_ant%C3%ADgeno_anticuerpo.pdf
- PEROZZO, C. (6 de Febrero de 2014). METROLOGÍA.COM.VE. Obtenido de <http://metrologia.com.ve/2014/importancia-de-la-acreditacion-de-los-laboratorios-forenses/>
- SALUD, M. D. (10 de Octubre de 2012). Guia de toma de muestras ,recoleccion,transporte. Obtenido de <http://www.jusneuquen.gov.ar/images2/Biblioteca/ProtocoloMuestrasBiologicas-equipointerdisciplinario-AreaInfantoJuvenil.pdf>
- WIKIPEDIA. (23 de Junio de 2016). WIKIPEDIA. Recuperado el 12 de marzo de 2016, de https://es.wikipedia.org/wiki/Aparato_reproductor_masculino
- MONTIEL, Sosa Juvenal, (2010). Manual de Criminalística, Editorial Limusa
- VILLALAÍN, J D. Apuntes de Medicina Legal Criminalística. Madrid: Dpto. de Medicina Legal, 1975

ANEXOS

CENTRO DE INVESTIGACIÓN DE CIENCIAS FORENSES DE LA CIUDAD DE AMBATO



Imagen 1 FGE Centro Forense de Ambato

Fuente: Fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación



Imagen 2 Parte lateral del Centro Forense de Ambato

Fuente: fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación



Imagen 3 Exteriores del Centro forense de Ambato
Fuente: fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación

CENTRO DE INVESTIGACIÓN DE CIENCIAS FORENSES DE LA CIUDAD DE AMBATO:

Área Administrativa



Imagen 4 Recepción

Fuente: fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación



Imagen 5 Oficinas del Centro forense de la ciudad de Ambato

Fuente: Fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación



Imagen 6 Ingreso al área de oficinas
Fuente: fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación



Imagen 7 Departamentos del centro forense
Fuente: fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación



Imagen 8 Pasillo (Centro de datos)
Fuente: fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación



Imagen 9 Ingreso (Sala pedagógica)
Fuente: fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación

TIPOS DE LABORATORIOS EXISTENTES EN EL CENTRO FORENSE

Laboratorio De Química Forense



Imagen 10 Laboratorio de química forense (Equipos)
Fuente: Fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación



Imagen 11 Instrumentos (Gases)
Fuente: Fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación



Imagen 12 Aplicación de muestras (Análisis)

Fuente: Fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación

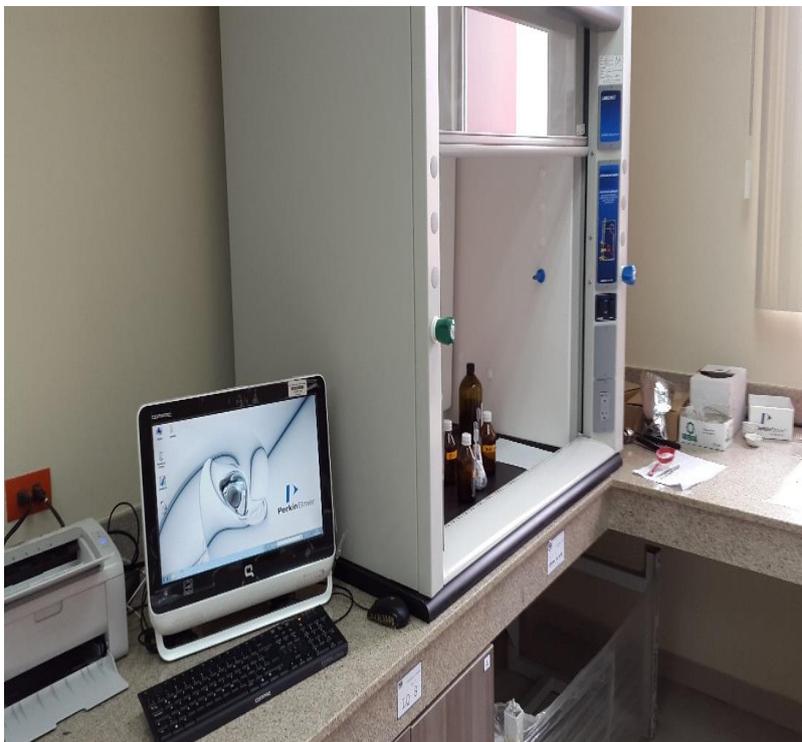


Imagen 13 Cámara de Flujo

Fuente: Fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación

Laboratorio De Biología Forense



Imagen 14 Laboratorio De Biología Forense

Fuente: fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación



Imagen 15 Almacenaje de muestras

Fuente: fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación



Imagen 16 Equipos (Microscopio Olympus)

Fuente: fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación



Imagen 17 Equipos (Microscopio de Comparación)

Fuente: fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación



Imagen 18 Área de Procesamiento de Evidencias
Fuente: fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación



Imagen 19 Área de tinción
Fuente: fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación

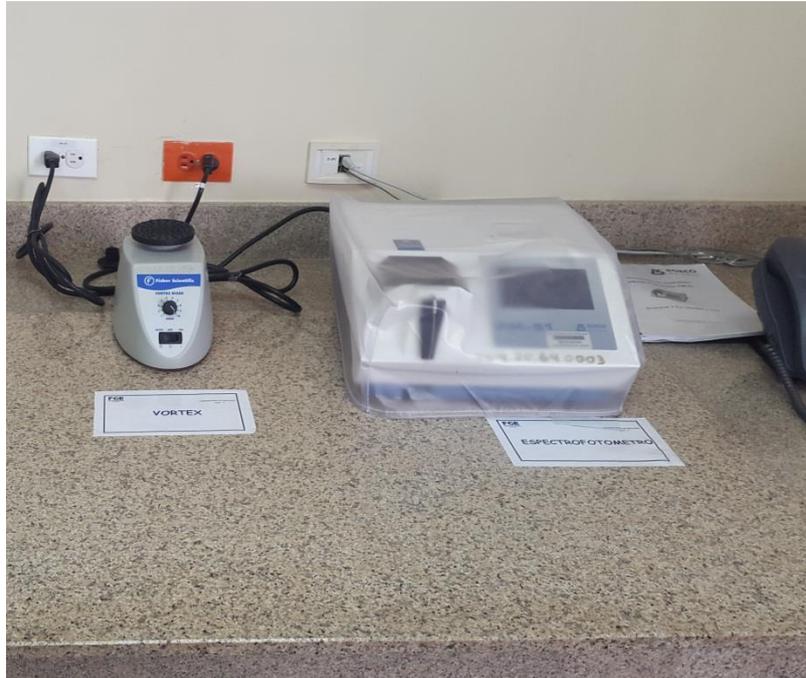


Imagen 20 Equipos

Fuente: fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación



Imagen 21 Ingreso al Laboratorio de Biología Forense

Fuente: fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación

Laboratorio De Histopatología Forense



Imagen 22 LABORATORIO DE HISTOPATOLOGÍA FORENSE
Fuente: fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación

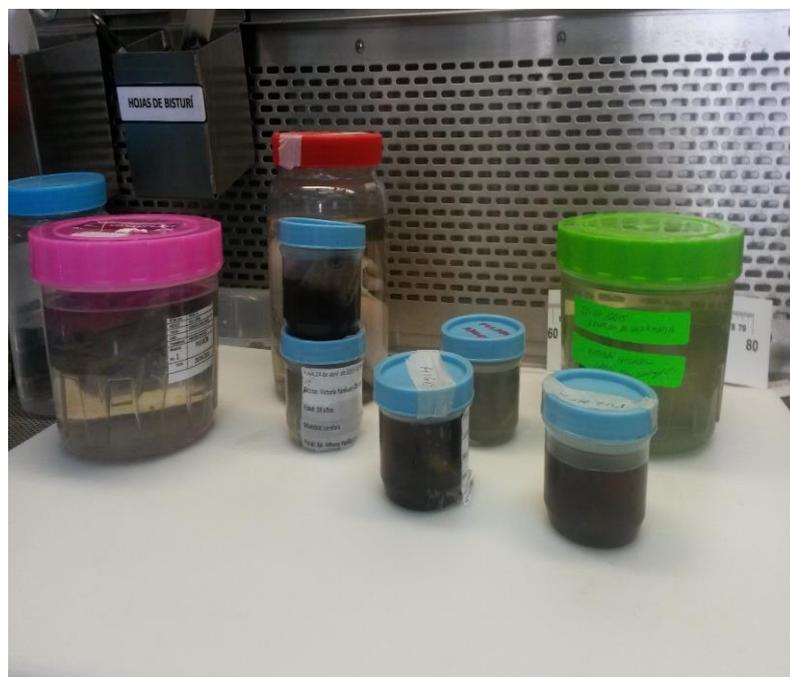


Imagen 23 Ejemplares de muestras
Fuente: fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación



Imagen 24 Procesamiento de Evidencias

Fuente: fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación



Imagen 25 Micrótopo

Fuente: fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación

Laboratorio De Tanatología Forense



Imagen 26 Área de Tanatología

Fuente: Fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación



Imagen 27 Muestras almacenadas

Fuente: fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación



Imagen 28 Cuarto frío

Fuente: fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación



Imagen 29 Laboratorio para extracción de muestras (Tanatología)

Fuente: fotos tomadas por los investigadores en el lugar de la indagación

Tipos de indicios



Imagen 30 Tipos de indicios (semen, sangre, fibras capilares, etc.)
Fuente: Google (Tipos de indicios)

Embalaje



Imagen 31 Conservación y embalaje de evidencias
Fuente: fotografía tomada por los investigadores en el lugar de la indagación



Imagen 32 Embalaje
Fuente: Google (Embalaje de indicios Biológicos)

Resultados

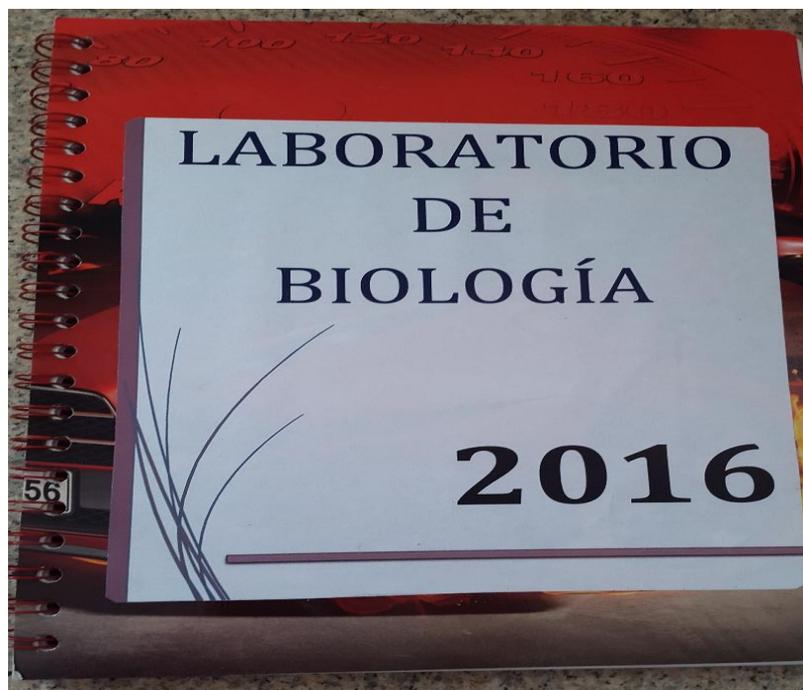


Imagen 33 Registros y resultados
Fuente: fotografía tomada por los investigadores en el lugar de la indagación



Imagen 34 Registros y archivos

Fuente: fotografía tomada por los investigadores en el lugar de la indagación

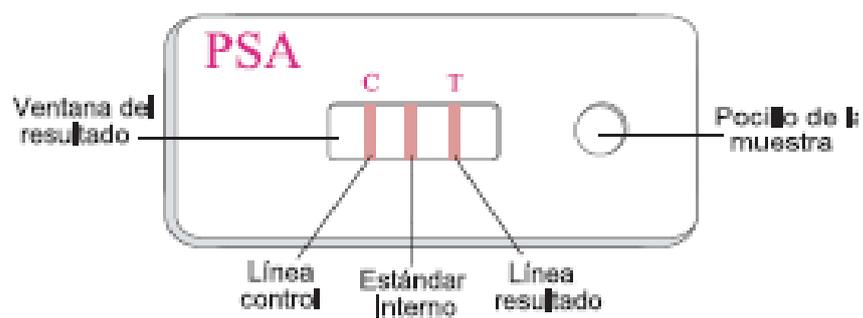


Figura 35. Cassette de prueba (PSA)

Fuente: Técnica empleada

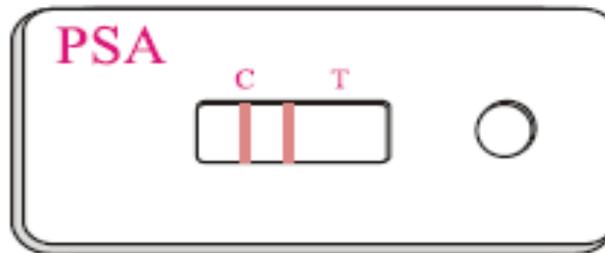


Figura 36. Resultado Negativo (PSA)
Fuente: Técnica empleada

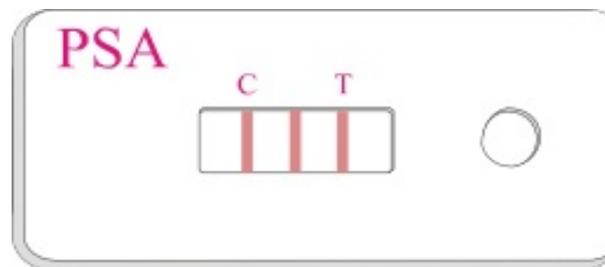


Figura 37. Resultado Positivo (PSA)
Fuente: Técnica empleada

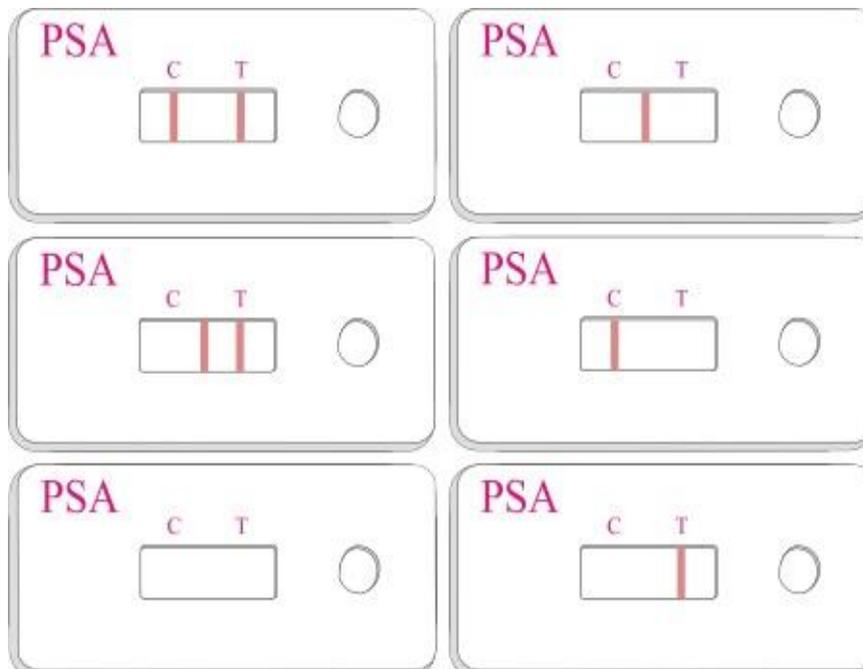


Figura 38. Resultados inválidos (PSA)
Fuente: Técnica empleada

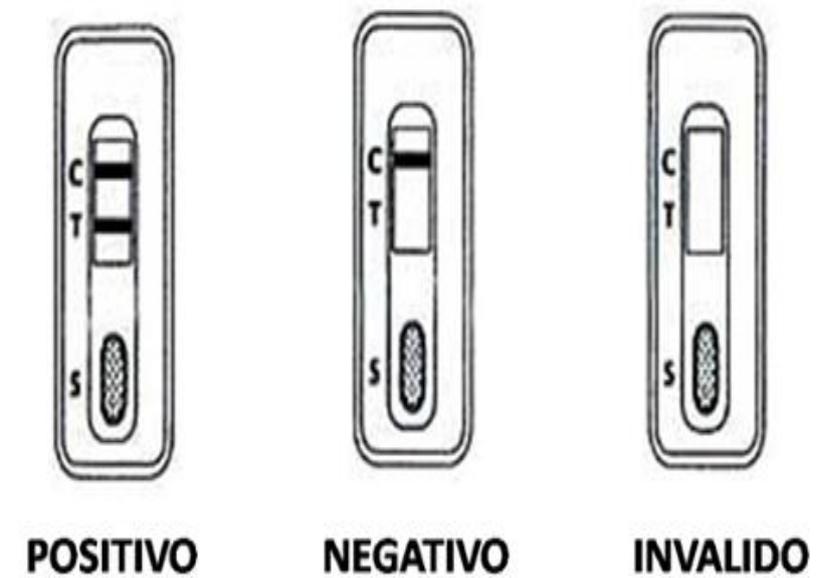


Figura 39. Tipos de Resultados (P30)
 Fuente: Técnica empleada

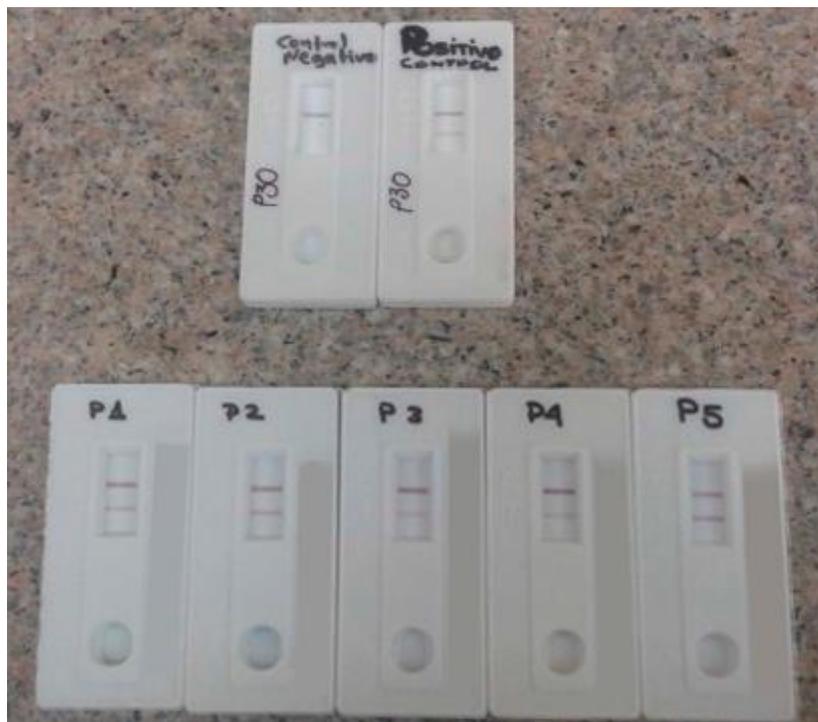


Imagen 40 Lectura del test (P30)
 Fuente: fotografía tomada por los investigadores en el lugar de la investigación

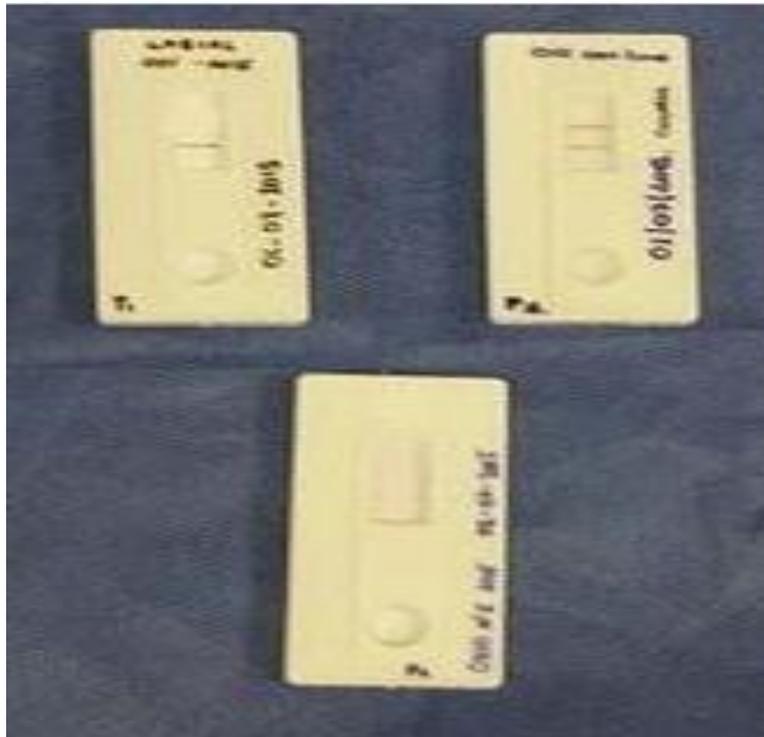
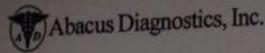


Imagen 41 Resultado Inválido (P30)

Fuente: fotografía tomada por los investigadores en el lugar de la investigación



ABAcard® p30 Test For The Forensic Identification of Semen

For Forensic Use

Immunoassay for the qualitative detection of p30 for the forensic identification of semen.

Catalog # 308332 (25 Test/kit)

Technical Information sheet Intended Use

ABAcard® p30 test is designed to qualitatively detect p30 for the forensic identification of semen. p30 is an accepted marker for detecting semen in criminal cases including vasectomized or azoospermic individuals.

Summary

In 1971 Hara et al. first described a protein in the seminal fluid, named gamma-seminoprotein. In 1978, Sensabaugh et al. characterized the protein in detail, found that its molecular weight corresponds to 30,000 Dalton and named it p30. In 1980 first immunometric assays were developed and Graves and Sensabaugh demonstrated that p30 is a reliable forensic marker for the identification of semen. The range of p30 is 200,000 to 5.5 million nanogram per ml of semen. The sensitivity of ABAcard, p30 test is 4 ng/ml and therefore seminal fluid diluted up to 1 in a million should also be detectable. Various methods of detection of p30 include Ouchterlony double diffusion, crossover electrophoresis, rocket immunoelectrophoresis, radial immunodiffusion, and ELISA. A disadvantage of all the above conventional methods is that they are either not sensitive enough or cumbersome and time consuming to perform in forensic laboratories. Abacus Diagnostics's ABAcard® p30 is, however, very sensitive with results only within 10 minutes.

Principle Behind This Test

In this test procedure, 200 µl of sample is added to the sample well 'S', and allowed to soak in. If p30 is present in the semen specimen, it will react with the mobile monoclonal antihuman p30 antibody and a mobile antigen antibody complex is thus formed. This mobile antibody-antigen complex migrates through the absorbent device towards the test area 'T'. In the test area 'T', a monoclonal antihuman p30 antibody is immobilized. This immobilized antibody captures the above complex so that an antibody-antigen-antibody sandwich is formed. The conjugated pink dye particles concentrate in a narrow zone on the membrane. When the p30 concentration in the sample exceeds 4 ng/ml the pink dye particles will form a pink colored band in the test area 'T' indicating a positive test result. As an internal positive control, p30 antibody-dye conjugates cannot bind to the antibody in the test area 'T', but are captured by an immobilized anti immunoglobulin antibody present in the control area 'C' forming a complex. The captured pink dye particles will thus form a band in the control area 'C', indicating that the test has worked properly and proper procedures have been followed. Thus, presence of two colored lines, one in the test area 'T' and other in the control area 'C', indicates a positive result, while a line only in the control area 'C' would indicate a negative result (provided no "high dose hook effect").

Reagents And Materials Provided

1. Test Device (25 pcs, each sealed individually in a test pouch)
2. A Dropper and a desiccant sealed inside each of the test pouch.
3. Extraction Buffer

Materials Required But Not Included

1. Clock or timer.
2. Centrifuge

Stability, Storage and Shelf Life

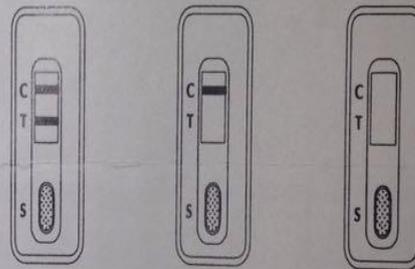
ABAcard® p30 Detection Test should be stored below 82°F (28°C). The test can be stored in the sealed pouch below 82°F (28°C) until the expiration date as printed on the sealed test pouch. Do not Freeze. Do not use the test after the expiration date.

Sample Collection, Preparation and Storage

- *The frozen specimens/swabs/stains must be thawed completely and brought to 2-8 °C.
- *Extraction of specimens from swab or stain may be performed in 750 µL of Extraction Buffer for 2 hours at 2-8 °C. This procedure recovers approximately 99% of the extractable p30 on the swab.
- *Centrifuge the above sample for 3 minutes after the above extraction step. Remove 300 µl of supernatant for testing purposes. This aliquot may be stored between 2-8 °C if not used immediately. Immediately before use with ABAcard® p30 test, the sample should be brought back to room temperature. Remaining sample may be used for further DNA analysis without affecting the DNA yield.

Test Protocol

1. Allow the sample to warm to room temperature if it has been refrigerated.
2. Remove the device and the dropper from the sealed pouch.
3. Label the device with the case number.
4. Add 200 µL (or 6-7 drops with the dropper) of sample to the sample well 'S' of the test device.
5. Read result at 10 minutes. Positive results can be seen as early as 1 minute depending upon the p30 concentration. For negative results, one must wait for full 10 minutes.



Positive

Negative

Invalid

1. **Positive.** If there are two pink lines, one each in the test area 'T' and in the control area 'C', the test result is positive and indicates that the p30 level is at or above 4 ng/ml.
2. **Negative.** If there is only one pink line (in the control area 'C'), the test result is Negative. This may indicate that (a) No p30 is present above 4 ng/ml or (b) Presence of "High Dose Hook Effect". Presence of "High Dose Hook Effect" may give false negative result due to the presence of high concentration of p30 in the sample, as for example in undiluted seminal fluid. In such cases the sample may be retested using a 10 to 10,000 fold dilution.
3. **Invalid.** If there is no pink line visible in the control area 'C', the test is inconclusive. Repeat the test and reexamine the test procedure carefully.

PRECAUTIONS

- * For the in vitro qualitative detection of p30 for the forensic identification of semen only.
- * Do not use beyond the expiration date which appears on the kit components.
- * Disposable gloves should be worn while handling kit reagents or specimens. Wash your hands after the test.
- * A fresh transfer pipette for each specimen should be used.
- * Do not smoke, eat or drink in areas in which specimens or kit reagents are being handled.

Imagen 42 Injerto de la Técnica ABAcard (P30) (Lado Anverso)

Fuente: fotografía tomada por los investigadores en el lugar de la investigación

Handle all forensic samples as if they were capable of transmitting disease. Follow standard procedures for proper disposal of specimens.

Kit reagents contain sodium azide as a preservative which may react with lead or copper in plumbing to form potentially explosive metal azides. Upon disposal, always flush with large volumes of water to prevent build up in drains.

Quality Control

The control line in the control area 'C' can be considered an internal procedural control. A distinct pinkish line will always appear if the test has been performed correctly. If the control line 'C' does not appear, the test is invalid and a new test should be performed following the correct test procedure. A quality control test using positive and negative control standards may also be performed.

Limitations

1. ABACard_® p30 Test is only for in vitro detection of p30 for the forensic identification of semen. Not for diagnostic use, for research use only.
2. The test must be performed in strict accordance with these instructions to obtain accurate and reproducible results.
3. If elevated p30 levels is suspected but a negative result is obtained, the test should be repeated and with fresh specimen.
4. Positive results may be obtained with male urine, which has a reported p30 mean value of 260 ng/ml. Seminal vesicle specific antigen should not be present when tested with urine. Use of another appropriate test is recommended when male urine is in question. The test results should be interpreted in conjunction with other information.
5. Appropriate specimen should be used since p30 is detectable in the vaginal tract only up to a maximum of 2 days.

Performance Characteristics

Sensitivity

The minimum detection limit of ABACard_® p30 Test is 4 ng/ml in 10 minutes (using Stanford's seminal plasma derived Standard, Catalog # L-F500, Phone # (650)725-5542 with PBS /BSA Buffer, pH 7.4, Sigma Catalog # P3688). Results with specimens having high levels of p30 may be obtained as early as 1 minute. For negative results, one must wait for full 10 minutes. The range of p30 is 200,000 to 5.5 million nanograms/ml of semen. Therefore, depending on p30 concentration, seminal fluid diluted up to 1 in a million may also be detectable.

Specificity

Hemoglobin (10 g/L), bilirubin (100 mg/L) and lipemic samples, as indicated by triglyceride (5 g/L), do not interfere with the test results. High protein concentration such as prostatic acid phosphatase (1000 ng/ml), albumin (20 g/L), chorionic gonadotropin (900 IU/ml), transferrin (5 g/L) and prolactin (1 mg/L) did not interfere with test results. Besides semen from both normal and vasectomized men, positive results were obtained from post-ejaculate urine and male urine from adult men, when the urine samples were directly added to the test. However, it is well established that p30 does occur in these urine samples with a reported mean value of 260 ng/ml. Seminal vesicle specific antigen should not be present when this test is used with urine.

Intra Assay and Inter Assay Studies

Intra-assay

An Intra Assay variability study was performed. Ten replicates of known positive and negative p30 samples were tested. The results demonstrated a 100% agreement with the expected results.

Inter-assay

Independent assays were performed on the above samples with three lots of ABACard_® p30 Test over a three month period. The assay results were 100% in agreement with the expected results.

Manufactured by:  Abacus Diagnostics, Inc.

Phone (877) 225-9900

www.abacardp30.com

Some Frequently Asked Questions

Q1. What is "High Dose Hook Effect"?

A1. "High Dose Hook Effect" occurs when the p30 concentration is too high since ABACard_® p30 test is very sensitive. The mechanism behind this effect is that huge amounts of human p30 bind both to the antibody to form an antigen-antibody complex but also free p30 migrates towards the test area "T". The antibody in the test area "T" is blocked by this free p30. Therefore the mobile antigen-antibody complex with the pink color cannot bind to the antibody. As a result no pink line will form in the test area "T" although a lot of p30 is present in the sample giving a false negative result.

Q2. Is there any minimum and maximum times for reading the results.

A2. Yes there is a maximum time of 10 minutes. The minimum time in a positive result is the time at which both lines appear. The time of the reaction depends upon p30 concentration and other characteristics of the specimen. However if the test line did not appear before ten minutes, one should wait for full 10 minutes to allow the reaction to occur. Specimen with lowest concentration of p30 should take longest time to react. It is to be noted that the results should not be read after 10 minutes since non specific reactions may occur and may result in false positives.

Q3. What does control band 'C' represent?

A3. The built-in procedural positive control is provided by the appearance of a pink line next to the letter 'C', validating the integrity of the test, assuring that the correct test procedure was followed and indicating that proper volume of the fluid entered the test cassette and capillary flow occurred. If the line in the control area 'C' does not develop within 10 minutes, the test result is invalid. Repeat the test using proper procedures.

Q4. Does the intensity of the test band 'T' and control band 'C' matter?

A4. The intensity of either the control band or the test band should not be compared between tests or to each other for ABACard_® p30 Test and no quantitative interpretation should be made based upon differences in the intensity. The mere appearance of both lines proves the presence of p30.

Q5. Where can we order the standard from?

A5. You may order L-F500 standard from Stanford by calling (650) 725-5542. You may order PBS/BSA buffer from Sigma (Cat # P3688) by calling (800)-325-3010

References

- (1) Benton, K.A., Donahue, J.A., Valadez, Jr., M. Analysis of the ABACard_® p30 Test for use in the forensic laboratory. 1998.
- (2) Kuester, J., Rothenberg, D., Schwartz, E., Eustace, M., Adamo, R. Validation of a commercial p30 kit (ABACard_®) for forensic identification of semen. 1998.
- (3) Carradiu, C.C. Evaluation of ABACard_® p30 test for the identification of Semen, 1998.
- (4) Kristaly, A., Smith, D.A.S. Validation of ABACard_® p30 test for the rapid forensic identification of Semen, 1999.
- (5) Silenies, E., Pearman, C., Atkinson, C. The Use of the ABACard_® p30 Test for the Detection of p30 (PSA) in Seminal Stains and Swabs. 2004.
- (6) Sattler, E. A Timeline of Seminal Fluid Markers within the Arid Zone. Northern Territory Police, Crime Scene Examination Unit. 2005
- (7) Stamey, T. et al. Reference reagents for prostate-specific antigen (PSA): Establishment of the first international standards for free PSA and PSA (90:10). Clinical Chemistry. V 46(9), p 1291-92, 2000.
- (8) Cartledge JJ et al. The stability of free and bound prostate-specific antigen. BJU Int, Nov;84(7);p 810-4, 1999.
- (9) Sokoll, L.J., Chan, D.W. p30. Its discovery and biochemical characteristics. Urologic Clinics of North America. v 24(2), p253-9, 1997.
- (10) Diamandis, E.P., Yu, H. Nonprostatic Sources of Prostate-Specific Antigen. Urologic Clinics of North America. v 24(2), p275-82, 1997.
- (11) Stamey, T.A. et al. Identity of p30 purified from seminal fluid by different methods: comparison by amino acid analysis and assigned extinction coefficients. Prostate. v 27(4), p 198-203, 1995.
- (12) Jimenez, Verdejo, A., Osuna, E. et al. Study of the enzymatic activity of GGT, LDH, PAP and p30 in semen stains: application to age calculation. For. Sci. Int. v 68(1), p 7-15, 1994.
- (13) Armbruster, D.A. p30. biochemistry, analytical methods, and clinical application. Clinical Chemistry. V 39(2), p 181-95, 1993.
- (14) Stowell, L.I. et al. An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for p30. For. Sci. Int. v 50(1), p 125-38, 1991.
- (15) Engelmann, U.H., Schramek, P., Tomamichel, G., Deindl, F., Senge, T.H. Vasectomy reversal in central Europe: results of a questionnaire of urologists in Austria, Germany and Switzerland. J. Urol. v 143(1), p 64-67, 1990.
- (16) Graves, H.C.B. et al. Postcoital detection of a male-specific semen protein. Application to the investigation of rape. New. Engl. J. Med. v 312 (6), p 338-343, 1985.
- (17) Willot, G.M. Frequency of azoospermia. For.Sci.Int. v 20(1), p 9-10, 1982.
- (18) Sensabaugh, G.F. Isolation and characterization of a semen-specific protein from human seminal plasma: a potential new marker for semen identification. J. Forensic. Sci. v 23 (1), p 106-115, 1978.

© Copyright
Printed in USA Rev 05/2011
ABACard_® p30
Catalog No. 308332

Imagen 43 Injerto de la Técnica ABACard (P30) (Lado Reverso)
Fuente: fotografía tomada por los investigadores en el lugar de la investigación

TRADUCCIÓN DEL INJERTO DE LA TÉCNICA DE ABACARD DE P30

Prueba para identificación forense de semen

Inmuno ensayo para detección cualitativa de P30

USO RECOMENDADO

La prueba ABACard P30 está diseñada para la detección cualitativa de P30 en la identificación de semen. El P30 es un marcador aceptado para la detección de plasma seminal en casos criminales incluyendo individuos vasectomizados o azoospermicos.

SUMARIO

En 1971, Hara y otros describieron una enzima proteínica en el fluido seminal llamada Gammaseminoproteína. En 1978, Sensabaugh y otros, caracterizaron la proteína en detalle, fundamentando que su peso molecular corresponde a 30.000 Dalton y fue llamada P30. En 1980, el primer ensayo inmunométrico fue desarrollado, Graves y Sensabaugh, demostraron que el P30 es un marcador forense confiable para la identificación de semen. El rango de P30 es de 200.000 a 5.500.000 de ng/ml de semen.

La sensibilidad de la prueba ABACard P30 es de 4 ng/ml por lo que el fluido seminal diluido tiene una proporción de 1 en 1.000.000 siendo perceptible también. Varios métodos de detección de P30 incluida la doble difusión Ouchterlony, electroforesis cruzada, rocket, inmunodifusion radial y Elisa. Una desventaja de los métodos mencionados es que son demasiados sensibles o muy sofisticados y consumen mucho tiempo para su análisis en laboratorios forenses, sin embargo la prueba de P30 ABACard de Abacus Diagnostics presenta resultados en solo 10 minutos.

FUNDAMENTO DE LA PRUEBA

Se agrega 200 micro litros (5 – 7 gotas) de una muestra diluida al pozo “S” y se permite la elución. Si P30 está presente en la muestra, reaccionara con un anticuerpo (Anti P30) monoclonal humano formándose un complejo antígeno anticuerpo. Este complejo antígeno anticuerpo móvil migra a través del dispositivo absorbente hacia el área “T” de la prueba. En el área de prueba “T” se encuentra fijo otro anticuerpo

monoclonal Ant P30. El anticuerpo monoclonal fijo, captura al complejo antígeno–anticuerpo para formar una especie de emparejado anticuerpo–antígeno–anticuerpo. Las partículas conjugadas de color rosa se encuentran concentradas en una zona delegada de la membrana.

Cuando la concentración de la P30 excede 4 ng/ml las partículas rosadas forman una banda colorida en el área “T” indicando un resultado positivo. El control positivo interno los conjugados de anti P30 y partículas coloridas no podrán formar complejo antígeno anticuerpo en el área de prueba “T”, pero en el área control “C” serán capturados por anticuerpos anti inmunoglobulina presentes en tal región formando un complejo. Las partículas de color rosa capturadas en el área “C” formaran una banda, indicando que la prueba funciona apropiadamente y que se siguió el procedimiento correcto. La presencia de 2 líneas coloridas, una en el área “T” y otra en el área control “C”, indican que el resultado es positivo, mientras que una línea en la región “C”, indica resultado negativo.

MATERIALES Y REACTIVOS PROPORCIONADOS

- 1.- Dispositivo para la prueba (25 paquetes sellados individualmente para una prueba cada uno)
- 2.- Un gotero y un secante sellado cada uno en una bolsa de prueba
- 3.- Instrucciones para efectuar la prueba

MATERIALES REQUERIDOS NO INCLUIDOS

- 1.- Cronometro o reloj
- 2.- Centrifuga

ESTABILIDAD, ALMACENAJE Y TIEMPO DE VIDA EN ANAQUEL

La prueba de detección DFE P30 de ABACard deberá almacenarse a una temperatura menor de 28 °C (82 °F) la prueba podrá ser almacenada por debajo de la temperatura mencionada hasta la fecha de vencimiento impresa en el saquillo de prueba. No debe congelarse. No se use después de cumplir la fecha de caducidad.

COLECCIÓN, PREPARACIÓN Y ALMACENAJE DE MUESTRAS

Los especímenes congelados/machas/limpiador deberán congelarse por completo y elevarse a una temperatura entre 2 y 8 °C.

La extracción de especímenes de la mancha o el aplicador deberán efectuarse con 750 micro litros de buffer de extracción durante dos horas a la temperatura antes indicada. El buffer, agua destilada u otros amortiguadores apropiados también pueden ser usados para la extracción de ADN. Este procedimiento rescatara aproximadamente el 99.9% del P30 extraíble del aplicador.

En casos de realizar la prueba inmediatamente la muestra deberá ser llevada a temperatura ambiente. La muestra restante podrá ser usada para análisis posteriores sin afectar la calidad de producto de ADN.

PROTOCOLO DE PRUEBA

- 1.- Luego de las 2 horas permita a la muestra alcanzar temperatura ambiente
- 2.- Remueva el dispositivo y el gotero del paquete sellado.
- 3.- Centrifugue la muestra 3 minutos a 1.200rpm
- 4.- Etiquete el dispositivo con el número de registro de caso
- 5.- Agregue 200ul (5 – 7 gotas del gotero aprox.) de la muestra “A” a la muestra del pozo “S” del dispositivo de la prueba.
- 6.- Revise los resultados después de 10 minutos. Un resultado positivo puede leerse después de tan solo 1 minuto, dependiendo de la concentración de P30. Para un resultado negativo el tiempo de espera máximo es de 10 minutos



Imagen 44. Tipos de Resultados (P30)
Fuente: Técnica empleada

1.- **Positivo.** En caso de aparecer dos líneas rosas, una en el área “T” y otra en el área de control “C”, el resultado es positivo lo cual indica que el nivel de P30 es mayor de 4ng/ml.

2.- **Negativo.** En caso de aparecer solo una línea rosa (En el área de control “C”) el resultado es negativo lo cual indica que:

- a) No se encuentra el P30 en concentración mayor a 4ng/ml.
- b) La presencia de “Dosis elevada de efecto gancho” puede dar resultados negativos falsos, debido a la presencia de una concentración elevada de P30 en la muestra, por ejemplo fluido seminal sin diluir. En otros casos la muestra deberá ser vuelta a probar usando una dilución 1 en 10.000 partes.

3.-**Inválido.** Si no existe la línea rosa visible en el área de control “C”, la prueba es inconclusa.

Repita la prueba y reexamine el procedimiento con cuidado.