

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



Proyecto Final de Investigación previo a la obtención del título de Licenciado(a)
en Ciencias de la Salud en Laboratorio Clínico e Histopatológico

TRABAJO DE TITULACIÓN

“ COMPARACIÓN DE LA TÉCNICA DE EOSINA Y CHRISTMAS TREE
PARA EL RASTREO DE ESPERMATOZOIDES EN CASOS DE DELITOS
SEXUALES EN EL CENTRO DE INVESTIGACIÓN DE CIENCIAS
FORENSES AMBATO – TUNGURAHUA, EN EL PERIODO JULIO –
DICIEMBRE 2016 ”

Autor: Joseline Lizbeth Frías García

Tutor: MsC. Paúl Parra Mayorga

Riobamba - Ecuador

Año 2017

REVISIÓN DEL TRIBUNAL

Los miembros del tribunal de graduación del Proyecto de Investigación de título: “Comparación de la Técnica de Eosina y Christmas Tree para el rastreo de Espermatozoides en casos de Delitos Sexuales en el Centro de Investigación de Ciencias Forenses Ambato – Tungurahua, en el Periodo Julio – Diciembre 2016”, presentado por Joseline Lizbeth Frías García, y dirigido por el Msc. Paúl Parra Mayorga, una vez escuchada la defensa oral y revisado el informe final del proyecto de investigación con fines de graduación escrito en el cual se ha constatado el cumplimiento de las observaciones realizadas, remite la presente para uso y custodia en la biblioteca de la Facultad de Ciencias de la Salud de la UNACH. Para constancia de lo expuesto firman:

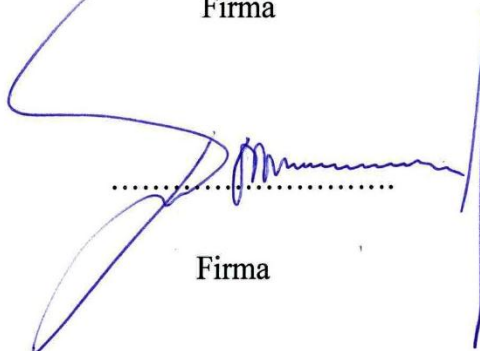
.....
Presidente del Tribunal
(Dra. Patricia Miño)


.....
Firma

.....
Miembro del Tribunal
(Dra. Liliana Araujo)

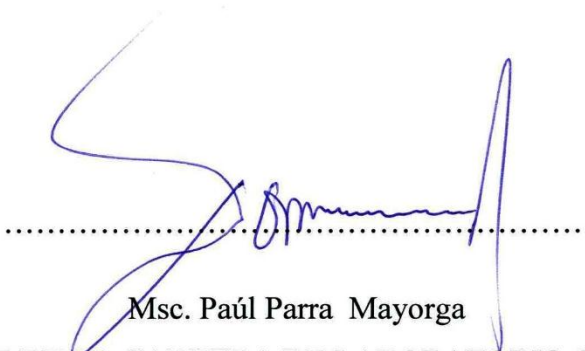

.....
Firma

.....
Miembro del Tribunal
(Msc. Paúl Parra Mayorga)


.....
Firma

DECLARACIÓN DEL TUTOR

Yo, Paúl Parra Mayorga docente de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico en calidad de tutor del proyecto de tesis con el tema: “Comparación de la Técnica de Eosina y Christmas Tree para el rastreo de Espermatozoides en casos de Delitos Sexuales en el Centro de Investigación de Ciencias Forenses Ambato – Tungurahua, en el Periodo Julio – Diciembre 2016”, propuesto por la Srta. Joseline Lizbeth Frías García, egresada de la carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico de la Facultad de Ciencias de la Salud, luego de haber realizado las debidas correcciones, certifico que se encuentra apto para la defensa pública del proyecto. Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad facultando a la interesada hacer uso del presente para los trámites correspondientes.



Msc. Paúl Parra Mayorga
DOCENTE DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E
HISTOPATOLÓGICO.

AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN

Yo, **Joseline Lizbeth Frías García** con C.I. 160057352-9, soy Responsable de todo el contenido de este trabajo investigativo, los derechos de autoría pertenecen a la Universidad Nacional de Chimborazo.



Joseline Lizbeth Frías García

160057352-9

DEDICATORIA

Dedico esta Investigación a mi Familia, amigos destacando entre ellos a la Licda. Verónica Cáceres Manzano que durante todo este tiempo han estado junto a mí, siendo parte incondicional no solo en mis estados de ánimo, sino también en calidad de investigadora y dándome el respaldo e impulso necesario para poder avanzar, en este paso pequeño pero grande a la vez, como el inicio de grandes cosas.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a la Lcda. Verónica Cáceres por el respaldo y Apoyo durante todo el proceso de la Investigación, dando las directrices necesarias, agradezco también a mis padres por el Apoyo incondicional y al Centro de Investigaciones de Ciencias Forenses de Tungurahua que ha permitido realizar la presente investigación dentro de sus Instalaciones.

INDICE

REVISIÓN DEL TRIBUNAL	ii
DECLARACIÓN DEL TUTOR	iii
AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN	iv
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTO	vi
INDICE	vii
INDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	x
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT.....	xii
CAPITULO I.....	1
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	2
1.2. JUSTIFICACIÓN.....	4
1.3.1. OBJETIVO GENERAL.....	5
1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	5
CAPITULO II	6
2. ESTADO DEL ARTE RELACIONADO A LA TEMÁTICA	6
2.1. CIENCIAS FORENSES.....	6
2.1.1. EL LABORATORIO DE CIENCIAS FORENSES	6
2.2. SEMEN	7
2.2.1. Fisiología.....	7
2.2.2. Funciones	7
2.2.3. Características	8
2.2.4. Composición del Semen.....	8
2.3. ESPERMATOZOIDE	9
2.3.1. Cabeza del Espermatozoide	9
2.3.2. Cola	10
2.4. AGRESIÓN SEXUAL	10
2.5. TÉCNICAS DE COLORACIÓN	10
2.6. BIOLOGÍA FORENSE	11
2.6.1. Pericias que se realizan dentro del Laboratorio de Biología orientadas a los delitos sexuales.....	11

2.6.2. Rastreo de Espermatozoides	12
2.7. TÉCNICA DE CHRISTMAS TREE	12
2.7.1. Forma de Reporte	13
2.7.2. Limitaciones de la Técnica.....	13
2.8. TÉCNICA DE EOSINA.....	13
CAPITULO III.....	15
3. METODOLOGÍA	15
3.1. Tipo de Investigación	15
3.2. Diseño de la Investigación	15
3.3. Métodos de investigación.....	16
3.4. Tipo de Estudio	16
3.5. Población y Muestra.....	16
3.5.1. Población.....	16
3.5.2. Muestra.....	16
3.6. Técnicas e Instrumentos de recolección de Datos.....	16
3.7. MATERIAL Y MÉTODOS	17
3.7.1. Técnica de Christmas Tree.....	17
3.7.2. Técnica de Eosina	18
3.7.3. Protocolo para la obtención de muestra en Soporte Sólido	18
CAPITULO IV.....	20
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	20
4.1.1. RESULTADOS DEL RASTREO DE ESPERMATOZOIDES OBSERVACIÓN AL MICROSCOPIO.....	28
5. CONCLUSIONES	33
6. RECOMENDACIONES	33
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34
8. ANEXOS	38

INDICE DE TABLAS

Tabla N° 1. Resultados Obtenidos del Rastreo de Espermatozoides con la Técnica de Christmas Tree y Eosina por mes durante el periodo Julio-Diciembre 2016....	20
Tabla N° 2: Número Casos de Delitos Sexuales dados durante el periodo Julio - Diciembre 2016.....	23
Tabla N° 3: Número de Casos de Delitos Sexuales por Cuidad o Sector dados en el Periodo Julio -Diciembre 2016	25
Tabla N° 4: Número de Análisis Positivos (Presencia) y Negativos (Ausencia) para Espermatozoides dados en el Periodo Julio -Diciembre 2016	27
Tabla N° 5. Extracción de Ventajas y Desventajas de las técnicas.....	32

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N°1: Número representado en Porcentaje de Casos de Delitos Sexuales dados en el Periodo Julio -Diciembre 2016	24
Figura N° 2: Número representado en Porcentaje de Casos de Delitos Sexuales por Cuidad o Sector dados en el Periodo Julio -Diciembre 2016.....	26
Figura N° 3: Número representado en Porcentaje de los Análisis Positivos (Presencia) y Negativos (Ausencia) para Espermatozoides dados en el Periodo Julio -Diciembre 2016.....	27
Figura N°4. Observación al microscopio Técnica de Christmas Tree	28
Figura N°5. Observación al microscopio Eosina	29

RESUMEN

Dentro del Área Forense el rastreo de espermatozoides contribuye a la investigación de un Delito Sexual constituyéndose como una prueba complementaria/confirmatoria en caso de hallazgos positivos, que posterior se presentan como evidencia ante un juicio, mediante informes periciales. En la presente investigación se probó una técnica de tinción alternativa, que contribuya a las tinciones Forenses aportando de esta manera a las Ciencias Investigativas en casos de Delito sexual en el Centro de Investigación de Ciencias Forenses de Tungurahua (CICF-T), lugar que atiende varios casos provenientes de diferente provincias de nuestro país; es por ello que al comparar la técnica de Eosina y Christmas Tree en el rastreo de espermatozoides, y aplicando los protocolos conocidos para las mismas, se hallaron ventajas y desventajas en la observación microscópica que afectan de forma directa a la calidad de visualización y diferenciación de las partes de las células espermáticas, pero con gran éxito para el hallazgo positivo en la determinación de presencia o ausencia de espermatozoides en las muestras analizadas.

Palabras Clave: Forense, Tinción, Eosina, Christmas Tree, Rastreo, Espermatozoides, Delito Sexual

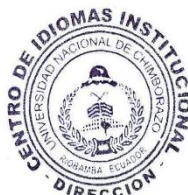
ABSTRACT

Within the Forensic Area the spermatozoon tracking contributes to the investigation of a Sexual Offense constituting as a complementary / confirmatory test in case of positive findings, which later appear as evidence before a trial, through expert reports. In the present investigation we tried to test an alternative staining technique that contributes to the Forensic stains thus contributing to the Investigative Sciences in cases of Sexual Offense that arrive at the Forensic Science Research Center of Tungurahua (CICF-T), which it attends Several cases coming from different provinces of our country; It is for this reason that when comparing the technique of Eosin and Christmas Tree in the tracing of spermatozoa, and applying the protocols known for them, we find advantages and disadvantages in microscopic observation that directly affect the quality of visualization and differentiation of the Parts of sperm cells, but with great success for the positive finding in the determination of the presence or absence of spermatozoa in the analyzed samples.

Key Words: Forensic, Staining, Eosin, Christmas tree, Tracing, Sperm, Sexual Offense



Reviewed by: Msc. Geovanna Vallejo
Language Center Teacher



CAPITULO I

1. INTRODUCCIÓN

A finales del siglo XIX ya se registraban actos de sometimiento y agresiones brutales en crímenes de índole sexual, y se cambió el termino de agresor sexual a violador; En Ecuador en los años 1972 a 1973 se realizaron los primeros registros estadísticos de nuestro país por el Licenciado Víctor Vega Uquillas, quien presentó varios datos sobre criminalidad y su crecimiento en el Ecuador, en el Primer seminario de Investigación en el Proyecto Violencia en América Latina dado en Quito- Ecuador, en el cual las provincias que figuraban con gran porcentaje criminal que eran Guayas, Pichincha, Azuay, Loja y Manabí que entre las infracciones más altas se encontraba los Delitos sexuales, con un crecimiento porcentual en 1972-1973 del 0.4%, a partir de ahí ya el delito sexual más que una infracción criminal es también un atentado social y cultural a la integridad personal y derechos humanos.^(1,2)

Según una investigación publicada por el diario el Comercio sostiene que en el Ecuador se reportan alrededor de 11 denuncias diarias, entre enero y julio del 2016, el Ministerio de seguridad ha reportado 2.368 casos a nivel nacional, y en el mismo periodo en el año 2015 se han reportado 2803 casos ⁽³⁾, que a diario se dan en las distintas provincias, ciudades y cantones, los cuales se pretenden esclarecer mediante investigaciones competentes al caso. A partir de los hechos mencionados varios años atrás ya nace la necesidad de descubrir a los autores de un delito, lo cual se logra mediante las ciencias forenses; estas nacieron en el siglo XIII, en china en la dinastía Tang, a raíz del uso de la lógica y pruebas forenses para resolver crímenes donde ya se analizaban señales de ahogo, estrangulamiento, heridas etc., el Hsi Yuan Lu clasificaba las lesiones de acuerdo al instrumento y la gravedad que causaban, en el siglo XV ya se hacía investigaciones de abortos, homicidio, infanticidios, luego en el año 1573 se promueve el Código Carolino en donde se establece de manera obligatoria a un médico como auxiliar para juicios, a partir de ahí esta ciencia ha ido avanzando entrando en la medicina, psicología, antropometría, antropología, hematología, microbiología, biología, Histología etc., disciplinas que hacen de las ciencias forenses una rama multidisciplinaria e un instrumento medidor y esclarecedor en un delito. ⁽⁴⁾.

Años atrás el Ecuador estaba lleno de corrupción, no había confianza en la justicia y mucho menos en quienes la hacían, como iniciativa ante este problema se implementan laboratorios, centros de investigación donde se garantice la calidad, inalterabilidad de una muestra o indicio donde se dé a relucir la verdad remitida a las pruebas. ^(5,6) La Fiscalía General del Estado como Impulso a la investigación científica creó una red de 8 centros Forenses, que por su ubicación y su índice de delitos están ubicados en: Manta, Santo Domingo, Machala, Ambato, Loja, Lago Agrio, Esmeraldas y Cuenca; dichos centros cuentan con Laboratorios de Química, Histología, Biología y Tanatología con tecnología moderna, además de salas de toma de muestra, Cuartos fríos, rayos X, ecografía e imagenología. El Centro de Investigación de Ciencias Forenses de Tungurahua (CICF-T) entró en sus funciones en el año 2013 y al igual que los demás centros es una herramienta veraz para esclarecer los crímenes, además sus peritos son regidos a protocolos dados por la FGE a los CICF que permiten la estandarización a nivel nacional, e incluso hacen más fácil la garantía de calidad en cada pericia realizada. ^(7,8) Una de las áreas con gran producción es la de Biología Forense; donde los indicios analizados van desde sangre, semen, hisopados vaginales, anales, saliva, secreciones, fibras, cabellos etc., que varían tanto de personas vivas como de occisos. ^(9,10) Dentro de las pericias realizadas en esta área son las destinadas a la investigación de los delitos sexuales, como es el rastreo de espermatozoides, que también es conocido como espermatoología forense donde se analizan maculas de líquido seminal que se pueden encontrar en soportes sólidos, con el fin de hallar pruebas que aseguren que existió el delito sexual o violación. ⁽¹¹⁾

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Luego de un delito sexual, la víctima busca refugio en sus casas y apoyo en sus familiares siendo estos los primeros en enterarse; en nuestro país donde la moral, religión y las creencias suele llegar a pesar más que el delito, se considera a la violencia sexual como la mayor deshonra que puede sufrir una persona y/o miembros del núcleo familiar, por lo que no acuden de manera inmediata a denunciarlo; sino más bien acuden a casas de salud como hospitales, centro y sub-centros de salud. Esto se debe a que en la víctima presenta síntomas de depresión, periodos de decaimiento, dolores pélvicos, hematomas en el cuerpo, en genitales o

infecciones en estos órganos, etc., lo primero que se le adjudica es algún problema de salud; donde el médico analiza y observa al paciente, en caso de hallar signos de agresión sexual, deben ser las autoridades competentes quienes determinaran las pruebas para encontrar al autor responsable de la agresión y darle una condena, sucede que en la mayoría de casos el médico que realiza la valoración, intenta hacer todo lo que pueda, pidiendo al Laboratorio Clínico los exámenes competentes al estado del paciente y en ocasiones también relacionados al indicio de agresión sexual hallado como un examen de secreción vaginal, o un rastreo de espermatozoides.

En estos casos el personal clínico no posee la experticia para manejar este tipo de situaciones, y la muestra no es tomada los protocolos adecuados dentro de las normas jurídicas, no se maneja una cadena de custodia y mucho menos la conservación, embalaje de muestras (indicios) presentando pérdidas de las mismas; esto representa un problema al momento de procesar los casos, ya que no existe la evidencia suficiente para la investigación y es probable que no pasen de la etapa de investigación previa, dejando en libertad a los presuntos autores.

Hablando del rastreo de Espermatozoides como tal, pericia que es solicitada en un Delito sexual, para lo cual nos basamos en una tinción o coloración que permiten mejorar la imagen o crear contraste para la visualización de una o varias estructuras vistas al microscopio. Una tinción forense a diferencia de otro tipos de tinciones radica en el propósito y la estandarización, nos referimos a que las tinciones utilizadas en el Laboratorio Clínico pueden estar sujetas a variaciones de la técnica, acoplada a la necesidad del laboratorio o del analista, mientras que un tinción forense no permite ninguna variación de la técnica debido que de esta manera se garantiza la validación y calidad del resultado, ya que está regida bajo las leyes y cualquier alteración puede invalidar la pericia, incluso la prueba ante un juicio. ⁽¹²⁾ La técnica utilizada a nivel nacional y con gran acogida es la técnica de Christmas tree a nivel Forense, por lo cual no es muy difundida en los centros de salud donde hay gran posibilidad de que traten primero la agresión, incluso hay casos en los cuales las casas de salud intentan realizar un rastreo de espermatozoides mediante otras tinciones teniendo resultados nulos o poco aceptados como prueba, es por ello que a partir del estándar de la tinción Christmas Tree para el rastreo de

espermatozoides queremos probar otra técnica que tenga mayor accesibilidad por parte de las casas de salud y permita obtener un resultado exitoso en el rastreo de espermatozoides, como es la tinción de eosina.⁽¹³⁾

1.2. JUSTIFICACIÓN

La intención de la presente investigación es probar una alternativa que pueda ser utilizada en los centros de salud y que al ser contrastada con el estándar que es la Técnica de Árbol de Navidad o Christmas Tree contribuya a las tinciones utilizadas dentro del área Forense y a las ciencias investigativas como parte del primer indicio para la corroboración de un delito sexual, dando solución al problema en el que la víctima es tratada como paciente y no se realizan las pruebas adecuadas al caso al acudir a la casa de salud primero y no a las unidades de atención especializada que son los Centros Forenses o unidades UAPI, implementadas en la Fiscalía y sistema Judicial a partir de mayo del 2015, creada para que la víctima por miedo a ser victimizada no denuncie el delito; y de esta forma la muestra procesada y en caso de hallar el resultado positivo se pueda usar como primer indicio/evidencia para la obtención de pruebas fehacientes que aporten a la investigación de un caso de delito sexual presentadas ante un juez. De esta manera evitaremos la pérdida de muestras, muestras insuficientes, mala conservación de muestras, placas que no se observan o dan resultados nulos por la falta de aplicación de las técnicas destinadas para la investigación forense. Incluso varias autoridades acogiéndose a esta problemática relacionada a los delitos sexuales y con el objetivo de evitar la revictimización como iniciativa en conjunto con la Fiscalía General del Estado crearon el formulario número 8 que acoge preguntas competentes al tema de Violencia Intrafamiliar emitido por la FGE a través del cual el paciente puede iniciar el proceso riguroso mediante la transcripción del relato y se verifica la presencia de lesiones similares, se entrega el formulario y la casa de salud que atendiera a la víctima mantiene una copia para constancia, dando inicio a la investigación.

1.3.OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

Comparar la técnica de Christmas Tree y Eosina para el rastreo de espermatozoides en casos de delitos sexuales en el Centro de Investigación de Ciencias Forenses Ambato – Tungurahua, en el periodo Julio – Diciembre 2016.

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Aplicar la técnica de Christmas Tree y Eosina en el rastreo de Espermatozoides.
- Analizar los resultados obtenidos del rastreo de espermatozoides realizados mediante la técnica de Christmas Tree y Eosina.
- Establecer las ventajas y desventajas en el uso de ambas técnicas tanto de Christmas Tree como de la Eosina en el rastreo de espermatozoides.

CAPITULO II

2. ESTADO DEL ARTE RELACIONADO A LA TEMÁTICA

2.1. CIENCIAS FORENSES

A nivel nacional e internacional, se define a las ciencias forenses como el conjunto de varias ciencias, técnicas y métodos que se aplican con el fin de buscar la verdad y a los autores de un delito, mediante el análisis de indicios, manejados en el marco legal. Las ciencias forenses hoy son el salto a la nueva era para la búsqueda de autores en un acto delictivo ya que se remite netamente a pruebas que señalen a los verdaderos culpables, olvidándonos de la impunidad que reinaba tiempo atrás.

2.1.1. EL LABORATORIO DE CIENCIAS FORENSES

El laboratorio forense es el sitio donde se procede al análisis de indicios tomados de la escena del crimen, con su adecuado embalaje y acompañados de su cadena de custodia, para ello existen diferentes áreas destinadas al adecuado tratamiento de los diferentes indicios y de esta manera se conviertan en pruebas, evidencias contundentes dentro de un juicio. Es 1910 en Lyon –Francia se da el primer laboratorio forense fundado por Edmond Locard, quien es considerado el padre las ciencias forenses actuales y reconocidas a nivel mundial por enunciar el Principio de Intercambio en el cual se basarían las ramas de las ciencias forenses y su investigación en la actualidad.

Dentro de los Laboratorios Forense en nuestro país se permite el análisis de los diferentes indicios dados por Áreas donde se realizan varias pericias diferentes, de las cuales las principales son: Biología Forense, Química Forense, Histología Forense, complementándose con el Área de Tanatología para el tratamiento de cadáveres y la recolección de indicios de los mismos; en estas áreas gracias a la tecnología se permite el análisis de varias muestras, pero cabe destacar que las muestras biológicas tales como: Sangre, Orina, Saliva, Semen, cabello, piel secreciones de todo tipo, etc., nos permiten la posibilidad de extraer ADN del autor, siendo este el análisis confirmatorio para encontrar al culpable, en el cual los laboratorios de ADN se encargaran de emparar los fenotipos y genotipos encontrados con su el autor del indicio biológico. Además de ello existen otras ramas que analizan otro tipo de indicios, sus patrones y comportamiento dentro de

una escena del crimen tales como balística, hematología Forense, antropología forense. Por lo mencionado anteriormente el Laboratorio Forense consiste en la aplicación de todas estas técnicas para demostrar científicamente las circunstancias del delito, señalando los instrumentos y evidencias resultantes del mismo a través del estudio y análisis con el fin de aportar a los órganos judiciales presentando las evidencias en un juicio respaldado del aporte científico. ⁽¹⁴⁾

2.2. SEMEN

El líquido seminal o semen es una sustancia de color blanquecino de aspecto viscoso secretado por el órgano reproductor masculino este líquido como su principal función es contener a los espermatozoides cuya misión es fecundar el óvulo.

2.2.1. Fisiología

La formación del Líquido seminal inicia en los tubos seminíferos de los testículos, dando inicio con la espermatogénesis gracias a la acción de la testosterona y la Folículo Estimulante, luego a medida que van creciendo los espermatozoides pasan al epidídimo para su maduración en el cual pasaran de 10 a 14 días, una vez que el espermatozoide ha alcanzado su nivel fertilizante y de movilidad los conductos deferentes los transportan hacia la uretra; las vesículas seminales producen una espesa secreción que representara entre el 60% al 80 % que envolverá a los espermatozoides esta sustancia es rica en fructosa lo cual servirá de energía a los espermatozoides para llegar al ovulo, además de ello la próstata también aporta entre un 15% a 30% del total con liquido prostático que es rico en enzimas y ácido cítrico que en combinación con el líquido de las vesículas seminales darán el pH característico y óptimo para que las células sexuales masculinas cumplan su función. Además de ello las glándulas de Cooper aportan con un 10 % del total que secretan líquido lubricante.

2.2.2. Funciones

Su función principal es asegurar la fecundación y por ende la reproducción de la especie para esto se vale de varias características y la dotación de energía a los

espermatozoides alrededor de 72h desde su expulsión, dentro de la cavidad femenina.

2.2.3. Características

Cantidad: El ser humano produce una cantidad de 2 a 6 ml dependiendo del periodo de abstinencia que haya tenido el individuo.

Color: Grisáceo –Blanquecino

Olor: Característico pero desaparece a medida que pase el tiempo

PH: Ligeramente alcalino que oscila 7,5

La cantidad de espermatozoides contenidos en la eyaculación del líquido seminal representa a menos del 10 % del total, es decir los espermatozoides contenidos varía de entre 70 a 150 millones por mililitro. Como elemento celular característico del semen se encuentran los espermatozoides, sin embargo el cuadro celular es mucho más complejo: presenta células gigantes, células epiteliales, leucocitos, células prostáticas, cilindros testiculares y bacterias.

2.2.4. Composición del Semen

- Fructosa
- Prostaglandinas
- Hormonas
- Vitaminas A, B, E
- Ácido Cítrico
- Ácido Láctico
- Aminoácidos
- Proteínas
- Calcio
- Fosforo
- Zinc
- Sodio
- Potasio

- Enzimas
- Fosfolípidos
- Carnitina
- Fosfatasa Alcalina

2.3. ESPERMATOZOIDE

Es la célula reproductora masculina, es haploide y su función es fecundar el óvulo. Esta célula es de forma piramidal, son las únicas células del ser humano que poseen flagelo, que le da movilidad a la misma se compone de dos partes principales que son cabeza y cola de las cuales se distinguen las siguientes estructuras que son las siguientes: acrosoma, núcleo, membrana, cuello, pieza media, cola, pieza terminal.

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

2.3.1. Cabeza del Espermatozoide

Esta sección contiene dos partes principales que son el acrosoma, este cubre los dos tercios anteriores de la cabeza, y el núcleo que contiene los 23 cromosomas que se unirán al ovulo completando la información genética. La cabeza mide 5 um, el núcleo y el acrosoma están envueltos en una membrana plasmática que sirve de unión entre la cabeza y la cola, además de ello esta membrana es la responsable de la movilidad del espermatozoide ya que contiene altos niveles de ácidos grasos polinsaturados.

2.3.2. Cola

También conocido como flagelo, aquí se encuentra el cuello que es corto, grueso contiene residuos citoplasmáticos de la espermática, separa a la cola de la cabeza y allí se anclan 9 columnas proteicas. Luego del cuello encontramos la pieza media mide de 4 o 5 um, posee mitocondrias en gran cantidad para la producción de ATP. La cola proporciona movilidad a la célula ^(15, 16)

2.4. AGRESIÓN SEXUAL

Un delito o agresión sexual según el COIP, es considerado a todo acto que vaya en contra de la voluntad o naturaleza sexual de cualquier persona sin importar su género, raza, o edad dentro de las cuales las más comunes son violaciones, estas se definen así mismas como “ el acceso carnal con introducción total o parcial del miembro viril, por vía oral, anal o vaginal ; o la introducción por vía vaginal o anal de objetos, dedos u órganos distintos al miembro viril, a una persona de cualquier sexo”⁽¹⁷⁾

2.5. TÉCNICAS DE COLORACIÓN

Las técnicas de coloración son auxiliares de diagnóstico confirmatorio dentro del estudio microscópico, dando mayor visualización a las estructuras a analizarse para su posterior identificación, de las cuales podemos diferenciar con mayor facilidad tamaño, estructuras celulares como citoplasma, núcleo, membrana, etc., gracias a una corriente química basada en la reacción iónica entre el colorante con las estructuras, creada por ciertos colorantes que dan contraste a la muestra en estudio. Las diferentes técnicas de coloración no solo nos permiten ver células, o microorganismos unicelulares, sino que también se han teñido estructuras relativamente más grandes como frotis y tejidos.

Dentro de lo anterior mencionado las técnicas de coloración no solo se basan en el tipo de colorante que se utilice o el número de colorantes para una tinción, también parte de su clasificación es dada por lo que van a teñir y su pH ya que suelen reaccionar de manera favorable a su contrario es decir, estructuras acidas tiñen estructuras básicas y viceversa en su mayoría. ⁽¹⁸⁾

2.6. BIOLOGÍA FORENSE

La Biología forense es la rama de las ciencias forenses encargada de la aplicación de varias técnicas destinadas al análisis científico de indicios biológicos, de una escena del crimen sean esta de homicidio, femicidio, delito sexual u otros, con el fin de identificar a sus autores, esclareciendo los hechos ante un juicio. Cabe mencionar que dentro de esta gran ciencia de biología forense existe el estudio especializado dentro como Hematología Forense, Microbiología Forense, Búsqueda de AND, etc.

2.6.1. Pericias que se realizan dentro del Laboratorio de Biología orientadas a los delitos sexuales

En nuestro país las pruebas más conocidas encaminadas a la investigación de delitos sexuales son la determinación del Antígeno Prostático (P30) y el Rastreo de Espermatozoides, estas pruebas son complementarias una con otra y confirmatorias a la vez, nos referimos a que la una determina la presencia del líquido seminal como tal en la muestra o prenda analizada mientras que la otra confirma una eyaculación con la expulsión de espermatozoides en el caso de hallarlos en la muestra.

Cuando es investigado un caso de delito sexual, al laboratorio llegan las muestras en soportes sólidos o líquidos, y dependiendo de este se realizara el procedimiento adecuado.

Tenemos dos tipos de pruebas, las orientativas y pruebas confirmatorias, las pruebas orientativas son la observación macroscópica del posible líquido seminal que suele presentarse como una mancha en la prenda, haciendo uso del tacto en caso de la muestra se encontrara acartonada o no y el olor, además de ello utilizamos la luz Ultravioleta, esta exposición de la prenda o soporte permite hacer la mancha visible, de maculas o manchas que eran invisibles al ojo humano, para esto también usamos protección visual, gafas de color anaranjado, la longitud de onda es a 400 nm, mientras que las pruebas confirmatorias pueden ser de tipo Enzimáticas, Electroforéticas, Inmunocromatograficas y Microscópicas como el Rastreo de Espermatozoides ⁽¹⁹⁾

2.6.2. Rastreo de Espermatozoides

Si bien es cierto el rastreo de espermatozoides es una técnica que trasciende de años de investigación cuyo principal objetivo es la búsqueda de espermatozoides en una muestra; sigue siendo la forma ratificadora, concisa para demostrar la presencia de esperma y por consiguiente si en un caso diera positivo, demostrar que existió la agresión sexual que se está investigando por parte de los laboratorios forenses, pero es una prueba forense como tal, una técnica manejada dentro de centros de Investigación de Ciencias Forenses y no exento de este grupo el Centro de Investigación de Ciencias Forenses de Tungurahua (CICF-T).

El tiempo de permanencia de los espermatozoides en la cavidad vaginal varía dependiendo de presencia de menstruación, infecciones vaginales, el pH vaginal, lavado vaginal, el ejercicio físico y la cantidad de espermatozoides eyaculados. La defecación, afecta el tiempo de permanencia de los espermatozoides en la cavidad anal. La mezcla de estas variables hace que en general, los espermatozoides puedan detectarse en vagina hasta tres días después del coito. Sin embargo en la literatura relacionada con la investigación forense, se han observado algunos casos en los cuales los espermatozoides han sido detectados hasta seis días después del coito, en cadáveres no existen referencias bibliográficas en cuanto al tiempo posible de encontrarlos vivos, pero se debe considerar su afectación por la putrefacción. ⁽²⁰⁾

2.7. TÉCNICA DE CHRISTMAS TREE

La Técnica de Christsmas tree o árbol de navidad para el rastreo de espermatozoides, fue visto por primera vez al microscopio por Van Leeuwenhoek en el año 1678, quien observo espermatozoides células que se encuentra exclusivamente en el tracto genital masculino y cuya finalidad es la reproducción. La anatomía del espermatozoide consta de una cabeza, un cuello y una cola que es más larga con relación a al tamaño de la cabeza.

La composición de los reactivos: Rápido Rojo Nuclear o reactivo de Kernechtrot (Rojo Rápido Nuclear 100g + Sulfato de Aluminio 5g + Agua Destilada 100ml). Y Pícrico Índigo Carmín (Ácido Pícrico 300ml + Índigo Carmín 1g) ⁽²¹⁾

La tinción del Árbol de Navidad es específica para espermatozoides, el material nuclear se tiñe de color rojo o rojo/púrpura, el cuerpo de los espermatozoides se observa de forma ovalada y teñido de rojo con un fondo rosado ligero, el acrosoma del espermatozoide se tiñe de color rojo ligero, la región media y la cola de los espermatozoides se tiñen de color verde o azul verdoso. Es necesario contar con un control positivo de espermatozoides y registrar el resultado mediante una fotografía para guardar como fotografía digital e imprimirla para adjuntar al expediente del caso. Puede suceder que en el extracto no se encuentren espermatozoides, esto puede deberse a la ausencia de semen en la muestra, o bien a la muestra proveniente de una persona con azoospermia (ausencia de espermatozoides en el semen) en los cuales la detección de PSA o p30 son indicadores de la presencia de semen. Cuando se requiere de un examen posterior de ADN en casos en los que se haya determinado un resultado positivo para la presencia de espermatozoides, se debe proveer con la conservación de una parte de los hisopos tomados a la víctima o la prenda de ropa para que se pueda comparar con muestras de fluidos biológicos (puede ser sangre) de el o los sospechosos.

2.7.1. Forma de Reporte

Se reporta como “PRESENCIA O AUSENCIA DE ESPERMATOZOIDES” Cuando el material celular es insuficiente se puede reportar como “MATERIAL INSUFICIENTE PARA EMITIR UN RESULTADO”.

2.7.2. Limitaciones de la Técnica

Por la naturaleza de la muestra y el tratamiento que se da en la preparación de los extractos es posible observar morfologías atípicas tales como la ausencia de cola.⁽²²⁾

2.8.TÉCNICA DE EOSINA

La técnica de Eosina, o también conocida como un test de vitalidad o de Williams Pollack, esta es una tinción supra vital, muy utilizada en el laboratorio Clínico dentro del espermatograma para determinar espermatozoides vivos y muertos, debido que en los espermatozoides muertos poseen gran permeabilidad de la membrana, permitiendo teñir su estructuras de un color Rojo / Rosado distinguiéndose cabeza y cola del espermatozoide. Basados en este principio

decidimos probar esta técnica en el rastreo de espermatozoides como técnica alternativa, ya que en las muestras que llegan al laboratorio Forenses para ser analizadas los espermatozoides llegan muertos, recordemos que un espermatozoides puede vivir un máximo de 72h en la cavidad vaginal contando con el pH ligeramente alcalino; esta técnica es sencilla de realizar y de bajo costo.⁽²³⁾

CAPITULO III

3. METODOLOGÍA

3.1. Tipo de Investigación

Para la realización del presente trabajo se usó dos tipos de investigación de acuerdo a los objetivos planteados:

Cualitativa: Porque se ha recopilado información que es analizada e interpretada para a partir de ello obtener un estudio profundo mediante datos descriptivos sobre la cantidad de delitos sexuales.

Descriptiva: A través del cual se detalla la investigación y los procedimientos a realizar, para determinar las características y diferencias principales de las técnicas aplicadas y así establecer la relación entre las variables.

Experimental: Porque se experimentó con una técnica no utilizada para el rastreo de espermatozoides basada en los principios del método científico, con la intención de obtener resultados que permitan valorar su efectividad.

Comparativo: Permite comparar una técnica con un estándar al ser utilizadas para un mismo fin, en este caso la Técnica de Christmas trae probada, con la de Eosina (experimental) y de esta manera contrastar resultados.

3.2. Diseño de la Investigación

Bibliográfica: Basada en la recopilación de información consultada en revistas, bibliotecas, sitios web, libros, blogs y revistas virtuales para en base a la lectura comprensiva extraer resúmenes útiles en la investigación sustentadas dentro de un marco teórico.

De Campo: Se realizó una aproximación de tipo exploratoria, ya que se permaneció en contacto directo con las muestras, y esta investigación está basada en hechos reales, manipulando las variables para obtener resultados útiles en el informe final.

3.3. Métodos de investigación

Esta investigación se fundamenta en el método de análisis de los datos obtenidos de fuentes secundarios los casos remitidos al centro forense por delitos sexuales.

Método Deductivo: Mediante este método se colaboró en la resolución de los casos de delitos sexuales empleando la técnica de Christmas Tree y Eosina para obtener resultados generales que nos permite tener conclusiones particulares.

Método Inductivo: Este método nos ayudó a determinar la presencia o ausencia de espermatozoides en las muestras analizadas en casos de delitos sexuales.

3.4. Tipo de Estudio

Transversal: Debido que se realizó en un periodo de tiempo determinado entre Julio – Diciembre 2016

3.5. Población y Muestra

3.5.1. Población

En la presente investigación se obtuvieron 62 casos en el periodo Julio-Diciembre 2016, pericias para el rastreo de espermatozoide que fueron remitidas al Centro de Investigaciones de Ciencias Forenses de Ambato –Tungurahua, de las que se realizaron 107 análisis que representan el total de la población.

3.5.2. Muestra

Se trabajó con el total la población por lo que no se aplicó ninguna fórmula para la muestra.

3.6. Técnicas e Instrumentos de recolección de Datos

Toda la información en la presente investigación se obtuvo mediante el análisis documental extraído de una fuente secundaria y la aplicación de las técnicas de Christmas Tree para el rastreo de espermatozoides en conjunto con la técnica de Eosina, que mediante un ensayo experimental y repetitivo aplicado a las diferentes muestras en el periodo de tiempo determinado, con el objeto de obtener resultados creando estadísticas que nos permitan valorar la efectividad de la técnica de Eosina

mediante la comparación de la mismas en el rastreo de espermatozoides . La obtención de los resultados y el procesamiento de las muestras se realizaron dentro de la política de confidencialidad que maneja la Fiscalía con respecto a sus casos, y por ende ha sido bajo un estricto control tanto de calidad, ética, formalidad e imparcialidad característica de las pericias realizadas a nivel de los CICF gracias a la colaboración del personal del área de Biología Forense de CICF- T que validaron nuestros resultados, ya que manejamos sus protocolos.

3.7. MATERIAL Y MÉTODOS

3.7.1. Técnica de Christmas Tree

MATERIAL

Timer
Placas porta Objetos
Cubre Objetos 20X40mm
Pipetas Pasteur
Muestra
Hisopos Estériles
Lámpara de Alcohol
Microscopio

REACTIVOS

Permunt
Etanol al 95%
Agua destilada
Reactivo de Kernechtrot
Pico-Indigo-Carmin

Procedimiento

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

3.7.2. Técnica de Eosina

MATERIAL

Timer
Placas porta Objetos
Cubre Objetos 20X40mm
Pipetas Pasteur
Muestra
Hisopos Estériles
Lámpara de Alcohol
Microscopio

REACTIVOS

Permunt
Agua destilada
Eosina

Procedimiento

1. Visualizar el frotis
2. Fijar el frotis a calor seco o a la llama directamente
3. Colocar unas cuantas gotas de Eosina, de manera que cubra todo el frotis
4. Dejar actuar 1 minuto
5. Lavar con agua destilada
6. Dejar secar y montar con Permunt
7. Observar en lente 40 X

3.7.3. Protocolo para la obtención de muestra en Soporte Sólido

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

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

5. Agitar con un dispositivo Vortex por 30 minutos a mínima rpm.
6. Centrifugue la muestra 8 minutos a 3.600 rpm.
7. Eliminar el sobrenadante con una pipeta.
8. Transferir el sedimento a una placa porta objetos.
9. Fijar la placa.
10. Realizar la tinción.

CAPITULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla N° 1 se reflejan los resultados obtenidos, a los cuales se les asignó una codificación diferente, denotando el número de muestras y la procedencia de cada una, además del resultado de rastreo que se realizó con la técnica de Christmas Tree y Eosina.

Tabla N° 1. Resultados Obtenidos del Rastreo de Espermatozoides con la Técnica de Christmas Tree y Eosina por mes durante el periodo Julio Diciembre 2016

JULIO			
CÓDIGO /CASO	CIUDAD O SECTOR	DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA (FROTIS/PLACA)	RESULTADO
01	Ambato	Hisopado de Interior / zona mariposa	Positivo
02	Saquisili	Hisopado Interior	Negativo
03	Mera	Frotis Vaginal	Positivo
04	Ambato	Hisopado Vaginal	Negativo
		Hisopado anal	Positivo
05	Guano	Frotis vaginal 1	Positivo
		Frotis vaginal 2	Positivo
06	Salcedo	Frotis vaginal	Positivo
		Frotis rectal	Negativo
07	Ambato	Hisopado fondo de saco Vaginal	Positivo
		Hisopado Rectal	Negativo
08	Pillaro	Frotis Vaginal	Positivo
AGOSTO			
09	Pallatanga	Frotis canal Vaginal	Negativo
10	Ambato	Hisopado Vaginal	Negativo
11	Pallatanga	Hisopado Vaginal	Negativo
12	Guaranda	Hisopado Vaginal	Negativo
13	Salcedo	Hisopado Vaginal	Positivo
		Hisopado Rectal	Negativo
		Hisopado Zona Mariposa	Positivo
14	Pto. López Manabí	Hisopado Intrioto Vaginal	Negativo
		Hisopado cérvix y fondo de saco	Negativo
15	Ambato	Hisopado Anal	Negativo
16	Ambato	Hisopado Vaginal	Positivo
		Hisopado Zona Mariposa (intr. Rojo)	Positivo
17	Guano	Frotis Vaginal	Negativo
18	Puyo	Hisopado Anal	Negativo

		Hisopado zona concha Boxer Beige	Positivo
19	Guano	Hisopado Vaginal	Positivo
SEPTIEMBRE			
20	Ambato	Hisopado Cavidad Vaginal	Positivo
		Hisopado Secreción Vaginal	Negativo
21	Guano	Frotis Vaginal 1	Negativo
		Frotis Vaginal 2	Positivo
		Hisopado Interior Zona Mariposa	Positivo
22	Riobamba	Frotis Vaginal 1	Negativo
		Frotis Vaginal 2	Positivo
		Hisopado Zona mariposa (Intr. Blanco)	Positivo
23	Guaranda	Placa Porta Obj. que Contiene Muestra	Negativo
		Hisopado vaginal	Negativo
24	Puyo	Hisopado 1 (frotis)	Negativo
		Hisopado 2 (frotis)	Negativo
25	Méndez	Hisopado Vaginal	Negativo
26	Archidona	Prenda Interior Amarillo / Hisopado Zona Mariposa	Positivo
		Prenda Interior Amarillo / Hisopado mariposa	Positivo
		Prenda Interior Amarillo / Hisopado Zona mariposa Borde	Positivo
27	Tena	Hisopado Vaginal	Positivo
		Hisopado Zona Mariposa Interior Rojo	Positivo
28	Salcedo	Hisopado Vaginal	Negativo
OCTUBRE			
29	Ambato	Hisopado Vaginal	Negativo
		Hisopado Anal	Negativo
		Interior gris / hisopado zona mariposa	Negativo
30	Ambato	Hisopado Vaginal	Negativo
		Interior Negro Hisopado Zona Mariposa	Negativo
		Interior Negro Hisopado Zona Mariposa	Negativo
31	Guano	Hisopado Vaginal	Negativo
		Placa Porta Obj. Frotis Vaginal	Negativo
32	Puyo	Hisopado Pantalón Fucsia / Zona Mariposa	Negativo
33	Guano	Frotis Vaginal	Positivo
34	Salcedo	Hisopado Vaginal	Negativo
		Hisopado Zona Mariposa Interior	Negativo
35	El chaco	Hisopado de la Parte delantera del Interior	Negativo
36	Morona	Hisopado Vaginal	Negativo

37	Manabí	Hisopado Vaginal 1	Positivo
		Hisopado Vaginal 2	Negativo
38	Ambato	Hisopado Rectal	Negativo
39	Guaranda	Hisopado Interior Verde	Positivo
40	Guaranda	Hisopado Vaginal	Positivo
NOVIEMBRE			
41	Bolívar	Frotis Placa porta Objetos	Negativo
		Hisopado Interior Rosado	Negativo
		Hisopado Interior Blanco	Negativo
		Hisopado Interior rosado – rojo	Positivo
42	Ambato	Hisopado Bóxer Zona concha	Negativo
43	Salcedo	Hisopado Vaginal	Positivo
		Interior Hisopado zona mariposa	Positivo
44	Ambato	Hisopado Fondo de Saco Vaginal	Negativo
45	Alausí	Hisopado Vaginal	Positivo
46	Puyo	Hisopado Vaginal 1	Negativo
		Hisopado Vaginal 2	Negativo
47	Tena	Hisopado zona mariposa interior blanco	Positivo
		Hisopado Vaginal	Negativo
48	Pelileo	Hisopado Vaginal	Positivo
		Hisopado Vaginal 2	Positivo
		Hisopado Rectal	Negativo
49	Pillaro	Frotis Vaginal	Negativo
50	Salcedo	Frotis rectal	Positivo
DICIEMBRE			
51	Sucúa	Frotis- Hisopado Vaginal	Positivo
52	Sucúa	Hisopado Vaginal	Positivo
		Hisopado Interior –Zona Mariposa	Positivo
53	Sucúa	Frotis Vaginal –Hisopado	Positivo
54	Puyo	Frotis Vulvar	Negativo
		Frotis Anal	Negativo
		Hisopado Interior- zona Mariposa	Positivo
		Hisopado región vulvar	Negativo
55	Pelileo	Hisopado Perivulvar	Positivo
		Hisopado Vaginal	Positivo
		Hisopado Anal	Negativo
56	Bolívar	Frotis Vaginal	Negativo
57	Pelileo	Hisopado Secreción Vaginal	Positivo
		Hisopado Cavidad Vaginal	Positivo
58	Puyo	Frotis Vaginal	Negativo
		Hisopado zona mariposa interior celeste	Positivo
59	Tena	Hisopado Vaginal 1	Positivo
		Hisopado Vaginal 2	Positivo
60	Ambato	Frotis Vaginal	Positivo
		Frotis Rectal	Negativo
61	Riobamba	Hisopado Vulvar	Positivo

		Hisopado Vaginal	Negativo
62	Riobamba	Frotis rectal	Negativo

Fuente: FRÍAS, Joseline 2017

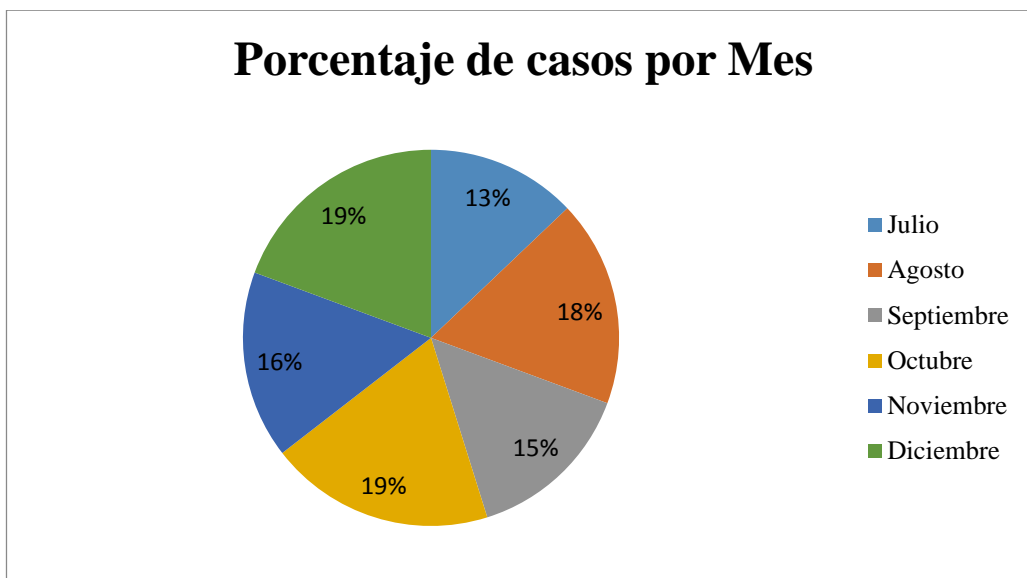
Se aplicó la Técnica de Eosina y Christmas Tree en cada muestra por lo que se realizaron frotis, para cada tinción en un total de 62 casos, remitidos al CICF-T provenientes de diferentes ciudades del País, como se observa en la **Tabla N°1**, además se aprecia el número de muestras por caso y de donde fueron remitidas, con su respectivo resultado, obtenido después del análisis que se expresó como positivo para la presencia de espermatozoides o negativo para su ausencia. Esto se debe a que el hallazgo de espermatozoides confirma una expulsión de líquido seminal, y la agresión sexual como tal, pero al no encontrarlos no descarta la agresión, y para confirmar un delito sexual complementamos con unas pruebas competentes a su estudio.

Tabla N° 2: Número Casos dados durante el periodo Julio -Diciembre 2016

Casos por Mes		
Mes	Número de Casos	Porcentaje
Julio	8	13%
Agosto	11	18%
Septiembre	9	15%
Octubre	12	19%
Noviembre	10	16%
Diciembre	12	19%
Total	62	100%

Fuente: Datos obtenidos en el CICF-T

Elaborado por: FRÍAS, Joseline 2017



Fuente: Datos obtenidos en el CICF-T
Elaborado por: FRÍAS, Joseline 2017

Figura N°1: Porcentaje de Casos dados en el Periodo Julio -Diciembre 2016

De los 62 casos analizados de 12 se dieron en el mes de Octubre y Diciembre siendo los meses con mayor número de casos ,seguidos de 11 dados en el mes de agosto, 10 en Noviembre, 9 Septiembre y 8 en el mes de julio como se observa en la **Tabla N°2** , este número está representado en porcentaje siendo 12 que representa al 19 % individualmente por cada mes de los casos seguido de un 18 % de los casos analizados en el mes de agosto, 16 % en el mes de noviembre, un 15 % en septiembre, y 13 % en el mes de julio, como se aprecia en la **Figura N°1** que solo incluyeron el rastreo de Espermatozoides realizado con la Técnica de Eosina y la de Christmas Tree a la par.

Tabla N° 3: Número de Casos de por Ciudad o Sector dados en el Periodo Julio - Diciembre 2016

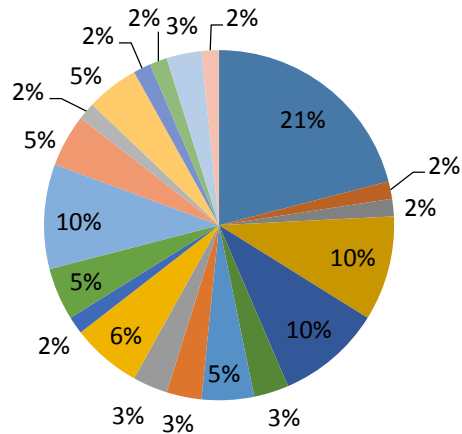
Número de Casos por Ciudad o Sector		
Ciudad o Sector	Número de Casos	Porcentaje
Ambato	13	21%
Saquisilí	1	2%
Mera	1	2%
Guano	6	10%
Salcedo	6	10%
Pillaro	2	3%
Pelileo	3	5%
Pallatanga	2	3%
Bolívar	2	3%
Guaranda	4	6%
Alausí	1	2%
Riobamba	3	5%
Puyo	6	10%
Tena	3	5%
Archidona	1	2%
Sucua	3	5%
Mendez	1	2%
Morona	1	2%
Manabí	2	3%
El Chaco	1	2%
Total = 20	62	100%

Fuente: Datos obtenidos en el CICF-T

Elaborado por: FRÍAS, Joseline 2017

Se aprecia el número de casos provienen de cada provincia o sector remitidos al CICF-T, teniendo así con mayor casos llevados de la ciudad de Ambato un total de 12 , esto tiene gran lógica debido a la ubicación del Centro Forense, por lo cual también recibe caso de sus aledaños como se describe en la **Tabla N°3** y se representa en la **Figura N°2**, pero también es muy interesante que existen casos de sitios lejanos como del Chaco o Manabí que son más de 1 caso atendido, lo que induce a que el CICF-T tiene gran confiabilidad a Nivel Nacional siendo 20 ciudades que han enviado sus muestras dentro del periodo de Análisis.

Porcentaje de Número de Casos por Ciudad o Sector



Fuente: Datos obtenidos en el CICF-T
Elaborado por: FRÍAS, Joseline 2017

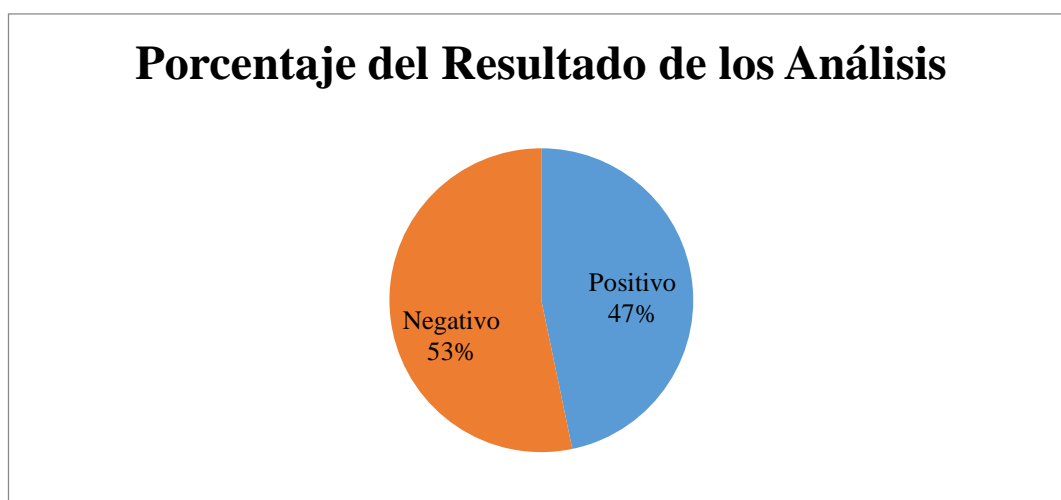
Figura N° 2: Porcentaje de Casos por Ciudad o Sector dados en el Periodo Julio - Diciembre 2016

Tabla N° 4: Número de Análisis Positivos (Presencia) y Negativos (Ausencia) para Espermatozoides dados en el Periodo Julio -Diciembre 2016

Número de Análisis Realizados		
Resultado de Análisis	Cantidad	Porcentaje
Positivo	50	47%
Negativo	57	53%
Total	107	100%

Fuente: Datos obtenidos en el CICF-T
Elaborado por: FRÍAS, Joseline 2017

Luego del Análisis correspondiente con las Técnicas antes ya mencionadas se obtuvo un total de 107 muestras de las cuales 50 fueron positivas en el hallazgo de espermatozoides y 57 negativas, tal como describe la **Tabla N°4**, representado en la **Figura N°3**.



Fuente: Datos obtenidos en el CICF-T
Elaborado por: FRÍAS, Joseline 2017

Figura N°3: Porcentaje de los Análisis Positivos (Presencia) y Negativos (Ausencia) para Espermatozoides dados en el Periodo Julio -Diciembre 2016

4.1.1. RESULTADOS DEL RASTREO DE ESPERMATOZOIDES OBSERVACIÓN AL MICROSCOPIO

Figura N°4. Observación al microscopio Técnica de Christmas Tree

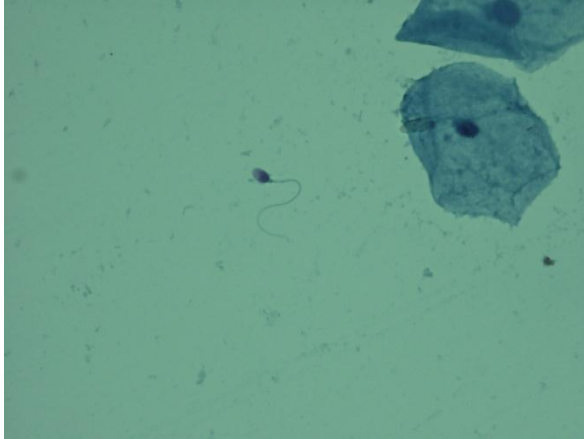


Fig. 4 a) Hisopado Vaginal
Fuente: Foto tomada en el CICF-T

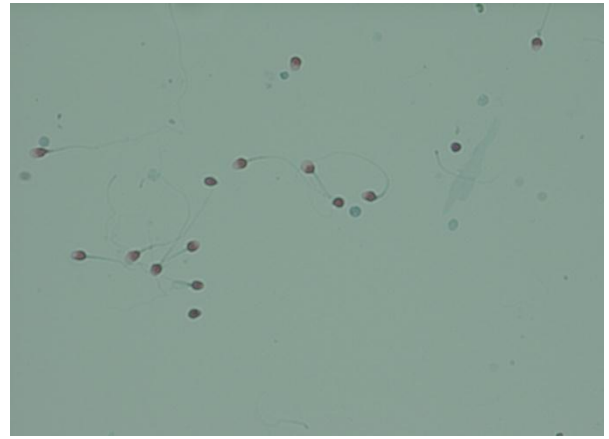


Fig. 4 b) Hisopado Interior Zona Mariposa
Fuente: Foto tomada en el CICF-T

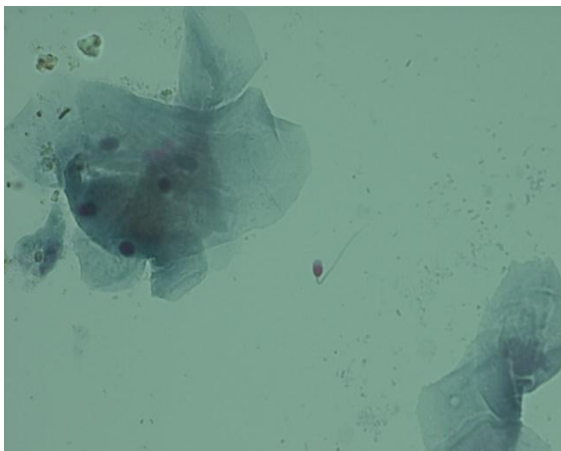


Fig. 4 c) Hisopado Vaginal
Fuente: Foto tomada en el CICF-T

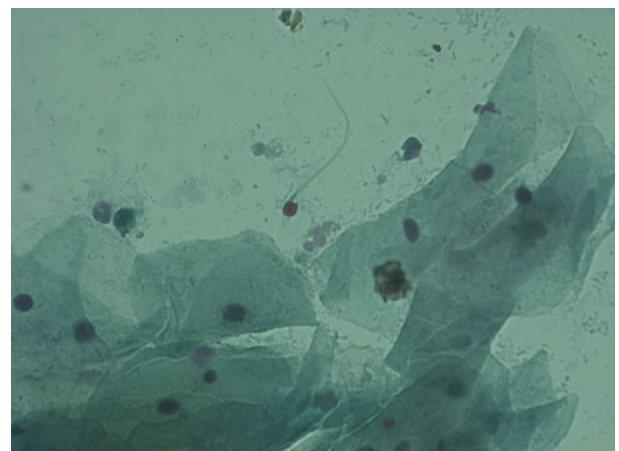


Fig. 4 d) Frotis Vaginal
Fuente: Foto tomada en el CICF-T

Figura N°5. Observación al microscopio Eosina

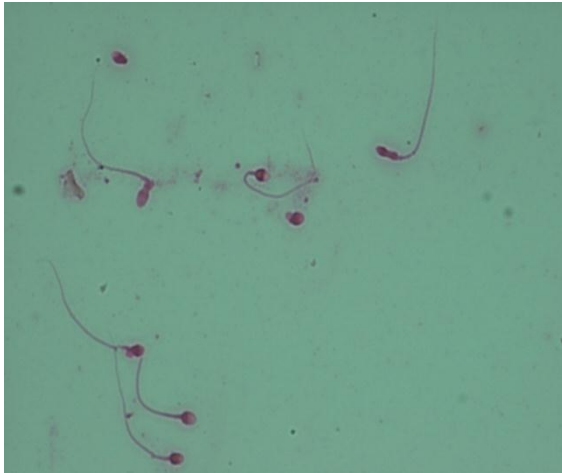


Fig.5 a) Hisopado Interior zona mariposa
Fuente: Foto tomada en el CICF-T

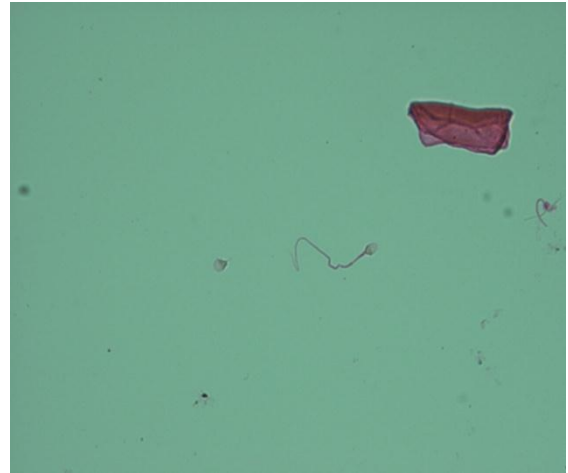


Fig. 5b) Hisopado Vaginal
Fuente: Foto tomada en el CICF-T

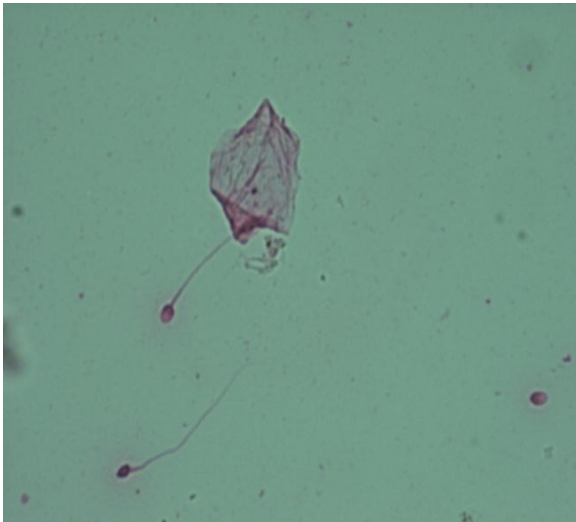


Fig.5 c) Frotis Vaginal
Fuente: Foto tomada en el CICF-T

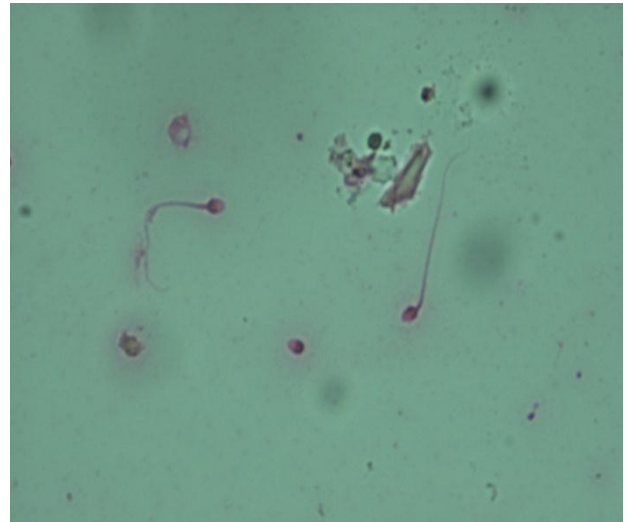


Fig. 5 d) Hisopado Vaginal
Fuente: Foto tomada en el CICF-T

Al observar las placas al microscopio se documentaron los hallazgos positivos fotográficos en los cuales se evidencian las diferencias de la tinción entre la Técnica de Eosina con la Técnica de Christmas Tree, **la Figura N°4** nos muestra la tinción

de Christmas Tree, en la cual observamos la diferenciación celular esperada y descrita por Espinosa Rosario ⁽²⁴⁾ en la cual se observara la cabeza, acrosoma de color rojo/ rosado y la cola de color verde, lo que permite el reconocimiento acertado de las células espermáticas y sus estructuras, así es posible reconocer solo cabezas o solo la cola del espermatozoide, lo cual indicaría la presencia de los mismos reportándose como positivo para cabezas o colas, esta técnica aplicada al rastreo de espermatozoides en caso de delitos sexuales, usada y estandarizada dentro del marco judicial en varios países, como en Colombia –Bogotá en el centro de Biología Forense de la Dirección Regional de Bogotá ⁽²⁵⁾ tras trabajar con gran cantidad de casos adjudican la efectividad de visualización de esta técnica calificándola como un éxito en el rastreo de espermatozoides, a la propiedad química de sus colorantes, en esto coinciden los peritos Martínez y Vallejo ⁽²⁶⁾ que de igual manera describen la calidad de visualización de la Tinción de Christmas Tree en el rastreo de espermatozoides. Para corroborar lo dicho, la **Figura N°4**: en el componente **4a)** Observamos Hisopado Vaginal, donde se aprecia al espermatozoide con la tinción de Christmas Tree, Cabeza color Rojo, Acrosoma Rosado, cola verde; cerca de una célula epitelial. **4b)** Es una muestra recuperada de un soporte sólido, Hisopado de Interior zona Mariposa, donde observamos gran cantidad de espermatozoides concentrado donde se aprecia la tinción y su especificidad. **4c)** Observamos un espermatozoide en un Hisopado Vaginal, además de ello apreciamos la tinción diferencial de las células epiteliales, la morfología de las mismas al igual que el espermatozoide con una cola incompleta. **4d)** De igual manera tenemos un frotis vaginal observamos un espermatozoide con la cola larga y completa rodeado de células epiteliales.

En la **Figura N°5** se observa la tinción con Eosina, una tinción no antes probada en el rastreo de espermatozoides, aunque existen descripciones de rastreos hechos con otras técnicas de tinción diferentes a la de Christmas Tree como la de Eosina/ Nigrosina, Papa Nicolau, Azul de Metileno, pero ninguna de estas echa como un estudio específico del rastreo y mucho menos comparada al estándar que se maneja dentro de la investigación de un delito sexual, es por ello que hasta ahora no se recomienda ninguna de estas en el rastreo de Espermatozoides. La Técnica de Eosina presenta una coloración Rojo /rosada de la célula espermática, obteniendo una excelente infiltración del colorante en la estructura celular, debido a la

permeabilidad de la membrana celular dando muy buen contraste para el reconocimiento de la forma en el rastreo, diferenciando la cabeza de la cola, la cabeza de rosado y la cola de rojo, permitiendo una buena visualización, garantizando confiabilidad en el rastreo para la validación de resultados; presentamos el componente **5a)** Muestra de recuperada de un soporte sólido, interior zona mariposa, observamos la concentración de espermatozoides donde observamos la tinción en las células espermáticas. **5b)** Hisopado Vaginal, donde se observa al espermatozoide con la tinción de Eosina, se diferencia de forma clara la Cabeza de la cola y una célula epitelial. **5c)** Frotis Vaginal observamos dos espermatozoides completos cerca de una célula epitelial. **5d)** Un Hisopado Vaginal en el que apreciamos la coloración descrita, y se aprecian 1 cabeza de espermatozoide, y dos espermatozoides completos, podemos distinguir la cabeza e identificarla por la morfología igual a los espermatozoides conjuntos, y el color rojo/rosado.

Al comparar las dos tinciones observadas hallamos la mayor diferencia de estas, que radica en la especificidad del contraste dado por los colorantes, en la técnica de Christmas Tree como describimos en la observación, existe especificidad en las estructuras espermáticas celulares, mientras que en la técnica de Eosina esta cualidad está ausente, esto se debe en primera a la variedad de colorantes usados en cada técnica que interfiere de manera directa en la complejidad y costos de las mismas, pero que en calidad de visualización para identificar a espermatozoides no interfiere de forma radical siendo la técnica de Eosina una alternativa exitosa en el rastreo de espermatozoides, aplicada en casos de delito sexual lo cual podría permitirse como evidencia en un juicio.

Del procedimiento de las técnicas y su observación microscópica se extrajo ventajas y desventajas de las mismas para una mejor apreciación en la conveniencia de la técnica alternativa probada. Como se observa en la **Tabla N°5**

Tabla N° 5. Extracción de Ventajas y Desventajas de las técnicas.

TÉCNICAS UTILIZADAS	CHRISTMAS TREE	EOSINA
VENTAJAS	<ul style="list-style-type: none"> • Existe diferenciación celular por partes ya que el núcleo se tiñe de color rojo/purpura, la cabeza rojo con fondo rosado y la cola verde o azul verdoso. • Gracias a la diferenciación celular se pueden reconocer estructuras separadas, es decir reconocer solo la cabeza o solo la cola del espermatozoide, así en caso de la degradación de la muestra presencia de colas o cabezas indica presencia de Espermatozoides. • El procedimiento es fácil de realizar. • Es una técnica estandarizada a nivel Nacional que permite la creación de controles positivos para validar el rastreo de Espermatozoides y sirva como evidencia en un juicio 	<ul style="list-style-type: none"> • Es un técnica sencilla y fácil de realizar • Los reactivos son de dominio popular lo cual los hace más fáciles de obtener • Debido a la baja complejidad de la técnica la hace más económica y accesible. • Es una técnica de dominio popular en el área clínica.
DESVENTAJAS	<ul style="list-style-type: none"> • Los reactivos son especializados, algo complicado de conseguir para particulares. • Es una técnica con complejidad alta por lo cual genera un mayor costo. • No es de conocimiento general 	<ul style="list-style-type: none"> • No existe diferenciación de estructuras del espermatozoide ya que se tiñe de un solo color rojo / rosado. • No es una técnica estandarizada para el rastreo de espermatozoides por lo cual no se puede utilizar de manera sola, nos debemos apoyar en un Estándar reconocido por la función judicial como la técnica de Christmas Tree

Elaborado por: FRIAS, Joseline 2017

5. CONCLUSIONES

1. Al aplicar la técnica Eosina contrastada con la técnica de Christmas Tree se probó una nueva alternativa para el rastreo de espermatozoides, dando solución al problema que inspiró esta investigación contribuyendo así a las tinciones Forenses.
2. Al analizar los resultados obtenidos de visualización en el rastreo de espermatozoides realizados mediante la técnica de Christmas Tree y Eosina se obtuvieron datos relevantes con respecto a la efectividad de la calidad de visualización de cada una de ellas, marcando diferencias pero con gran éxito en la identificación de la célula espermática y su reconocimiento.
3. Se estableció las ventajas y desventajas en el uso de ambas técnicas tanto de Christmas Tree como de la Eosina en el rastreo de espermatozoides que se obtuvo al comparar los procedimientos y la observación al microscopio.

6. RECOMENDACIONES

- El hacer ciencias forenses abre un nuevo campo investigativo dentro de nuestra carrera, por eso es importante que se incentive al cuestionamiento en este campo, permitiéndonos a los estudiantes la creación de alternativas que contribuyan no solo al área Forense sino también al área Clínica, trabajando las dos áreas en conjunto.
- Implementar los laboratorios con reactivos y equipo que permitan realizar las diferentes investigaciones, permitiendo al estudiante expandir el campo de investigación despertando una nueva perspectiva.
- Al trabajar con muestras de casos de delitos sexuales sujetos a investigación revisar las cadenas de custodia, conservación y embalaje de muestras para así saber cómo proceder a su recuperación en caso de mala conservación.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Vigarello G. Historia de la Violación siglos XV-XX, Femicidios. [Google.books]. Madrid: Editorial Catedra; Año 1999; [29 de Noviembre 2016]. Disponible en : https://books.google.com.ec/books?id=kiSzO9q9fakC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
2. M. Rico José. Crimen y Justicia en América Latina. [Google.Books] 5ta Ed. México. Editorial Siglo Veintiuno; 1998; [29 de Noviembre del 2016]. Disponible en : <https://books.google.com.ec/books?id=iy17gAwYg9MC&pg=PA72&dq=primer+delito+sexual+registrado+en+ecuador&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEWjH2bLyvM7QAhUK4iYKHQsNCDcQ6AEIGTAA#v=onepage&q=primer%20delito%20sexual%20registrado%20en%20ecuador&f=false>
3. Vega A. Slide Share. Historia de las ciencias forenses. 2 de Septiembre del 2012; [15 de diciembre del 2016]. Disponible en : <http://es.slideshare.net/angiedanielavegasosa/historia-de-las-ciencias-forenses>
4. Ortega J. El Comercio. [Internet]. Ecuador reporta 11 casos de agresiones sexuales cada día; 15 de agosto 2016; [29 de Noviembre 2016]. Disponible en : <http://www.elcomercio.com/actualidad/ecuador-reporta-agresiones-sexuales-diario.html>
5. Gonzales J.A. Artes. Muestran la historia de la ciencia forense, desde la escena del crimen hasta los tribunales. España: Editorial 20 minutos: 14 de Enero 2015; [30 de Noviembre del 2016]. Disponible en: <http://www.20minutos.es/noticia/2344167/0/forense/historia/exposicion/>
6. Ramos A. sbd. Historia de la Ciencia Forense Moderna. Security By Deafult: 08 febrero del 2011; [30 de Noviembre del 2016]
7. EcuadorInmediado. Fiscalía completo la apertura de 8 centros Forenses en Ecuador. Ecuador: Ecuador Inmediato.com. Edición #4135. 17 de Febrero del 2015; [30 de Noviembre del 2016]. Disponible en : http://www.ecuadorinmediato.com/index.php?module=Noticias&func=news_user_view&id=2818776472
8. El Telégrafo. La red de Centros de Investigación y Ciencias Forenses. [El Telegrafo.com]. Ecuador: El Telégrafo; 22 de Diciembre del 2014; [30 de

- Noviembre del 2016]. Disponible en :
www.eltelegrafo.com.ec/noticias/judicial/13/la-red-de-centros-de-investigacion-y-ciencias-forenses-cicf-se-extendio-por-5-provincias-en-2014
9. Quispe K. Recolección de Indicios Biológicos, Biología Forense, Peru.2015;[04 de Diciembre del 2016. Disponible en :
http://www.mpfm.gob.pe/escuela/contenido/actividades/docs/2399_recojo_de_indicios_biologicos_en_la_escena_karin_nemi_quispe_ramirez_281112.pdf
 10. Alicia L. Biología Forense, [BlogSpot.com].Abril 2013 ;[04 de Diciembre del 2016]. Disponible en : <http://biologiaforenseuni.blogspot.com/>
 11. López H. Biología Forense en la Escena del Crimen.[SlideShare].Julio 2010;[05 de Diciembre del 2016]. Disponible en :
<http://es.slideshare.net/josacama/biologia-forense-4664088>
 12. Ministerio de Salud Pública. Coordinación Zonal 6. [Internet]. Ministerio de Salud Pública del Ecuador. Quito –Ecuador: Dirección Nacional de Comunicación Imagen y Prensa; 2013;[07 de Diciembre 2016]. Disponible en : <http://instituciones.msp.gob.ec/cz6/index.php/sala-de-prensa/951-hospital-general-macas-y-fiscalia-coordinan-acciones-referentes-a-delitos-sexuales-y-violencia-intrafamiliar>
 13. Fuertes J. Manual de Ciencias Forenses Vol.1. Segunda Edición. Madrid-España. Editorial S.A. ARAN. Año 2012.
 14. Strasinger Di Lorenzo. Análisis de Orina y de los Líquidos Corporales. 5ta Edición. Buenos Aires. Editorial Médica Panamericana S.A. 2010.
 15. Cuiza C. Labor de la sección de Biología Forenses en la investigación de Delitos sexuales. [Internet]. Archivos Bolivianos de Medicina. Vol. 16. N°84. N° de pag. 107. ISSN 0004-0525. 7 de Noviembre del 2011 ; [08 de diciembre del 2016]. Disponible en :
<http://www.revistasbolivianas.org.bo/pdf/abm/v16n84/v16n84a03.pdf>
 16. Carma C. Métodos de reconocimiento, identificación e individualización de manchas de semen. 1ra parte.[Criminalistica.net]. Octubre del 2010;[08de Diciembre del 2012]. Disponible en:
http://www.criminalistica.net/forense/index.php?option=com_content&vi

- ew=article&id=788:metodos-de-reconocimiento-identificacion-e-individualizacion-de-manchas-de-semen-1era-parte&Itemid=101
17. Zúñiga. González. A. Serie de Justicia y Derechos Humanos. Código Orgánico Integral Penal 2014; [23 de Noviembre de 2016]. Disponible en : http://www.justicia.gob.ec/wp-content/uploads/2014/05/c%C3%B3digo_org%C3%A1nico_integral_penal_-_coip_ed._sdn-mjdhc.pdf
 18. López L. Hernández M. Colin C.et al. Tinciones básicas del Laboratorio. [Internet].Vol. 3. México. Investigación en Discapacidad. Enero 2014; [26 de Noviembre de 2016]. Disponible en : <http://www.medigraphic.com/pdfs/invdiss/ir-2014/ir141b.pdf>
 19. E. Mellisho. Manual de Laboratorio de Reproducción.2010;[08 de Diciembre del 2016].Disponible en : http://tarwi.lamolina.edu.pe/~emellisho/Reproduccion_archivos/Practica%204-eval-semen.pdf
 20. Villarroel C., Cisneros J. Determinación de la Proteína P30 y Rastreo de espermatozoides en personas víctimas de agresión sexual en el centro de Investigación de Ciencias Forenses Tungurahua en el periodo Enero – Agosto 2015. [Internet]. Riobamba. 2016; [06 de Diciembre del 2016]. Disponible en : <http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/1529/1/UNACH-EC-LAB.CLIN-2016-0009.pdf>
 21. Narváez L. Tinción de Árbol de Navidad.[Internet]. Genially. 2016; [08 de Diciembre de 2016], Disponible en : <https://www.genial.ly/57fb0b92b6c04f34986ed378/tincion-arbol-de-navidad>
 22. Fiscalía General del Estado. Sistema Especializado Integral de Investigación en Medicina y Ciencias Forenses. Manual de Procedimientos de Laboratorio y Biología Forense. Ecuador. 2013; [15 de Diciembre del 2016].Disponible en : http://www.fiscalia.gob.ec/files/archivos%20AC/COIP%20073%20FGE/Area%20Ciencias%20Forenses/6__Manual_de_Procedimientos_de_laboratorio_de_Biologa_Forense.pdf

23. Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias agropecuarias. Aulas Virtuales [Internet]. MOODLE. 2017; [26 de Diciembre del 2016]. Disponible en : <http://www.fca.proed.unc.edu.ar/mod/book/view.php?id=5335&chapterid=895>
24. Espinoza R. Universidad Veracruzana. [Internet].Xalapa. Febrero 2013; [05 de Enero del 2017].Disponible en : <http://cdigital.uv.mx/bitstream/123456789/39973/1/espinozagavitorosario%20paola.pdf>
25. Grupo de Biología Forense. Dirección Regional de Bogotá. [Internet]. Medicina Legal. 24 de Diciembre del 2014; [05 de Enero del 2017]. Disponible en : http://www.medicinalegal.gov.co/el-instituto/-/asset_publisher/4Of1Zx8ChtVP/content/grupo-de-biologia-forense-direccion-regional-bogota/pop_up;jsessionid=6F36B8845467D4883DB36C5F1B57A8DE?_101_INSTANCE_4Of1Zx8ChtVP_viewMode=print
26. Vallejo G. Martínez P. Revista Española de Medicina Legal. Visualización microscópica en agresiones sexuales. Elsevier España S.L.Vol.38. 2012; [06 de Enero del 2017]. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-revista-espanola-medicina-legal-285-articulo-visualizacion-microscopica-agresiones-sexuales-S0377473212000430>

8. ANEXOS



Área de Procesamiento de Muestras
Fuente: FRIAS, Joseline 2017



Área de Tinción
Fuente: FRIAS, Joseline 2017



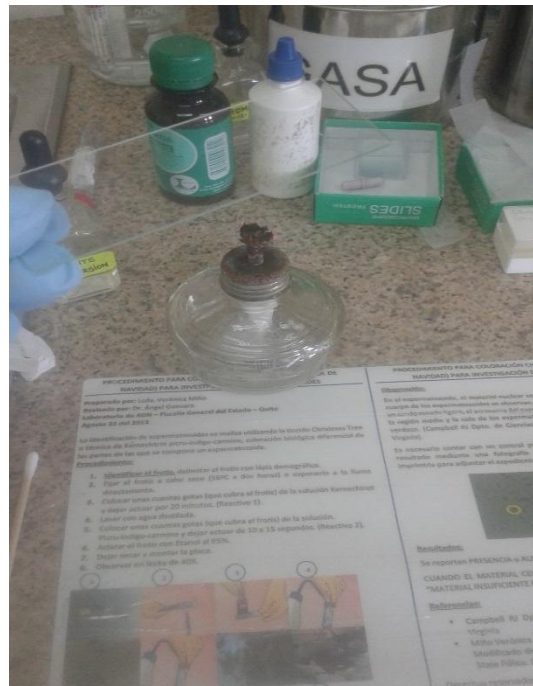
Reactivos para la Tinciones
Fuente: FRIAS, Joseline 2017



Recuperación de la Muestra en Soporte
Sólido
Fuente: FRIAS, Joseline 2017



Realización del Frotis
Fuente: FRIAS, Joseline 2017



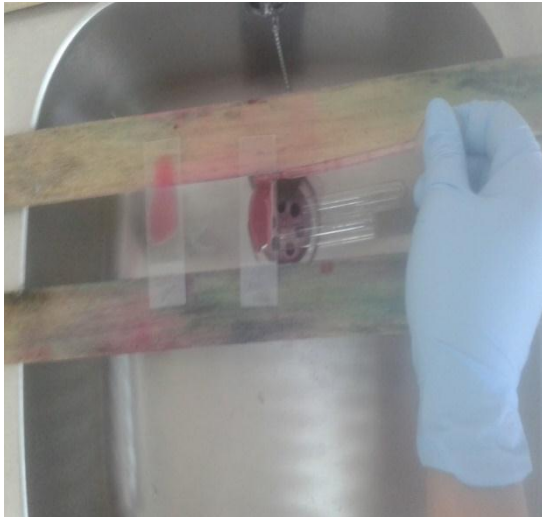
Fijación del Frotis
Fuente: FRIAS, Joseline 2017



Frotis Fijados listo para Teñir
Fuente: FRIAS, Joseline 2017



Tinción de Placas
Fuente: FRIAS, Joseline 2017



Reactivo de Kernechtrot
Fuente: FRIAS, Joseline 2017



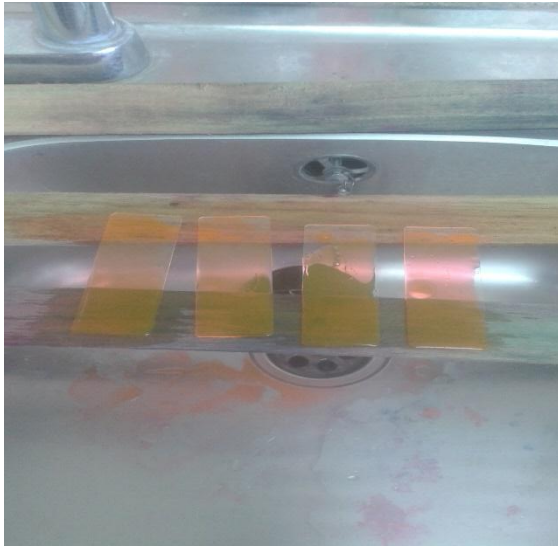
Lavado con Agua Destilada
Fuente: FRIAS, Joseline 2017



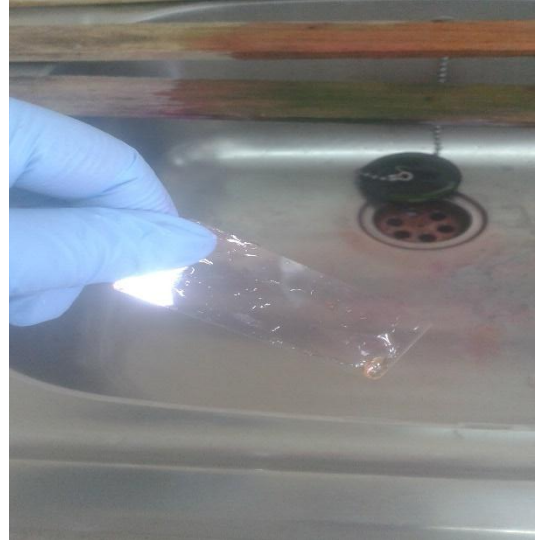
Reactivo Pico-Indigo-Carmine
Fuente: FRIAS, Joseline 2017



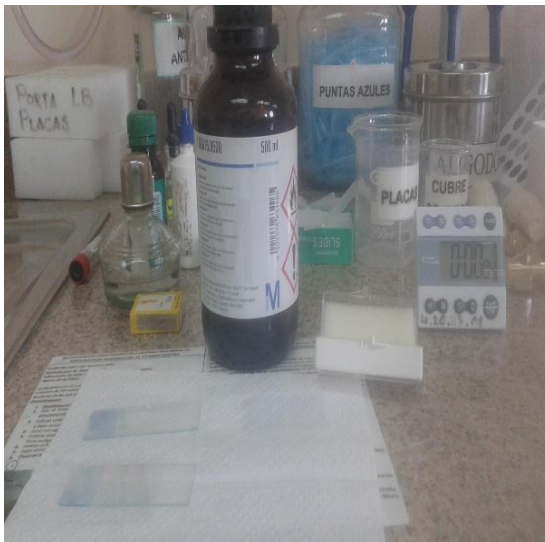
Aclarado con Etanol al 95%
Fuente: FRIAS, Joseline 2017



Placas con Reactivo Eosina
Fuente: FRIAS, Joseline 2017



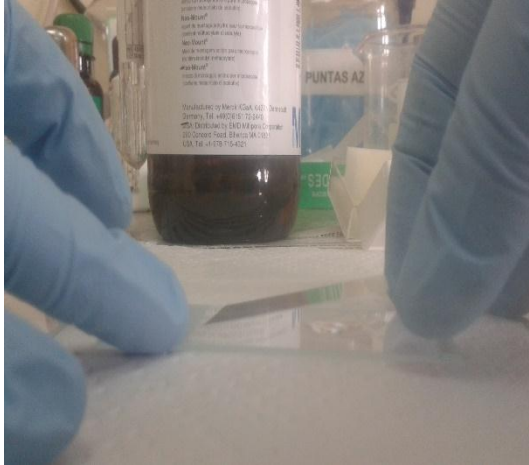
Lavado de Placas, tinción con Eosina
Fuente: FRIAS, Joseline 2017



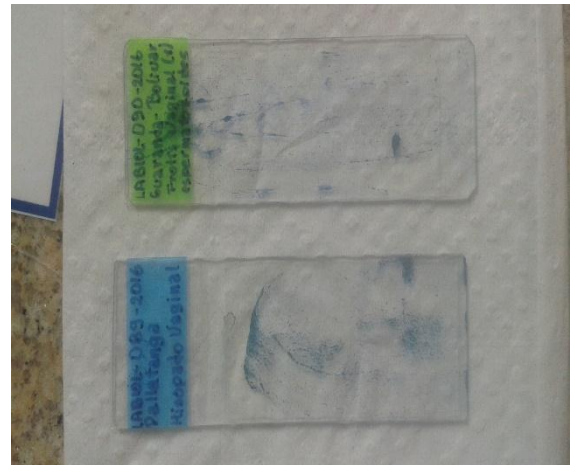
Secado de Placas, tinción con Eosina
Fuente: FRIAS, Joseline 2017



Secado de Placas, área de montaje
Fuente: FRIAS, Joseline 2017



Montaje de Placas con Neo.Mount
Fuente: FRIAS, Joseline 2017



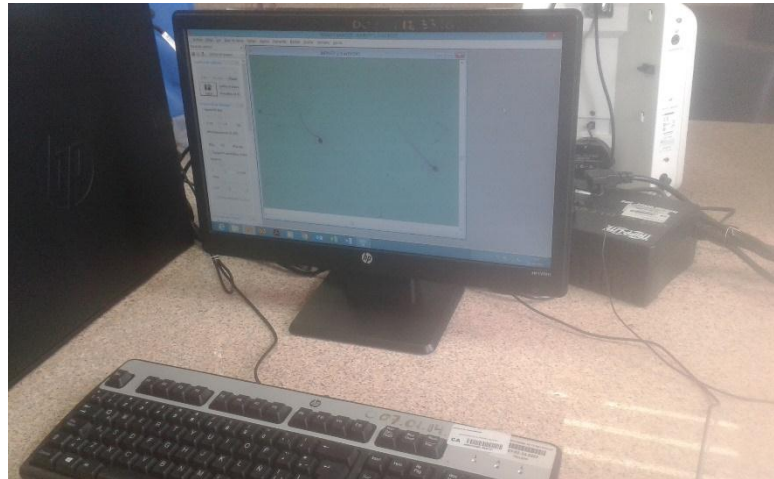
Placas listas para la Lectura
Fuente: FRIAS, Joseline 2017



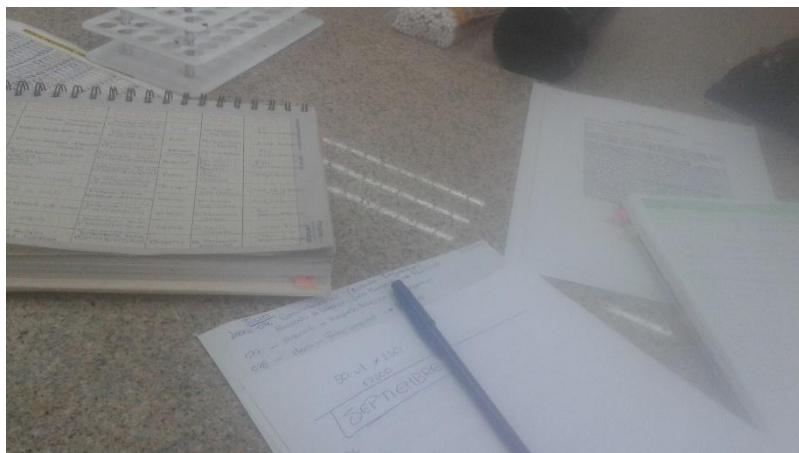
Enfoque de Placas (Microscopio Olympus)
Fuente: FRIAS, Joseline 2017



Lectura de placas, Rastreo de Espermatozoides (lente 40X)
Fuente: FRIAS, Joseline 2017



Toma de Fotografías en hallazgos positivos
Fuente: FRIAS, Joseline 2017



Recolección de Datos y Resultados
Fuente: FRIAS, Joseline 2017