



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS
DEPARTAMENTO DE SALUD PÚBLICA
T.S.U CITOTECNOLOGÍA
METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN EN SALUD**



**FACTORES QUE PODRIAN AFECTAR LA PESQUISA DE CÉLULAS ESPERMÁTICAS
EN MUESTRAS CITOLÓGICAS FORENSES DE FLUIDO SEMINAL VINCULADAS A
DELITO DE ABUSO SEXUAL**

**AUTORES:
SÁNCHEZ ERICMAR
SÁNCHEZ DANIELYS**

**TUTOR:
OFFIR TARIBA**

NAGUANAGUA, 2021



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
 FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
 ESCUELA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS
 DEPARTAMENTO DE SALUD PÚBLICA
 T.S.U CITOTECNOLOGÍA
 METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN EN SALUD



CONSTANCIA DE APROBACIÓN

Los suscritos miembros del jurado designado para examinar el Informe Monográfico titulado:

**FACTORES QUE PODRIAN AFECTAR LA PESQUISA DE CÉLULAS ESPERMÁTICAS
 EN MUESTRAS CITOLÓGICAS FORENSES DE FLUIDO SEMINAL VINCULADAS A
 DELITO DE ABUSO SEXUAL**

Presentado por los bachilleres:

Ericmar Sánchez
 Danielys Sánchez

Hacemos constar que hemos examinado y aprobado el mismo, y que aunque no nos hacemos responsables de su contenido, lo encontramos correcto en su calidad y forma de presentación.

Fecha: 02/11/20

ELIEZER TOVAR
 Profesor CI-20.967.994.

Profesor
 José María CORDERO
 CI-1752020

Profesor
 Jesús A. Cordero
 22.311.891



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS
DEPARTAMENTO DE SALUD PÚBLICA
T.S.U CITOTECNOLOGÍA
METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN EN SALUD



**FACTORES QUE PODRIAN AFECTAR LA PESQUISA DE CÉLULAS
ESPERMÁTICAS EN MUESTRAS CITOLÓGICAS FORENSES DE FLUIDO
SEMINAL VINCULADAS A DELITO DE ABUSO SEXUAL.**

AUTORES:
SÁNCHEZ ERICMAR
SÁNCHEZ DANIELYS

TUTOR:
OFFIR TARIBA
AÑO: 2021

RESUMEN

La experticia forense realizada en muestras de fluidos corporales humanos como el semen aportan elementos probatorios de gran importancia en los procesos penales relacionados con delitos sexuales. Este estudio tiene como objetivo general determinar los factores que podrían afectar la pesquisa de células espermáticas en muestras citológicas forenses de fluido seminal vinculadas al delito sexual. Objetivos específicos: indagar sobre los procesos de control para resguardar la evidencia física proveniente de delito sexual; conocer los métodos peritales para la identificación de células espermáticas en fluido seminal asociado a delito sexual; determinar los factores que podrían afectar la pesquisa de espermatozoides en muestras forenses de fluido seminal; indagar sobre los métodos y técnicas que actualmente se emplean en los laboratorios forenses venezolanos para procesar las muestras de fluido seminal en la pesquisa de células espermáticas para corroborar el delito sexual. La investigación se realizó bajo un diseño documental descriptivo cuyos datos fueron obtenidos de la revisión y análisis de fuentes de información y documentación relacionados con el tema de estudio así como la consulta a expertos mediante entrevista. Se concluye que, en el transcurso de una investigación penal por delito sexual, muestras biológicas de fluidos corporales como el semen podrían sufrir cambios en su integridad dificultando su análisis e interpretación y poniendo en serio riesgo la buena marcha de la investigación así como la credibilidad en los resultados.

Palabras clave: pesquisa, espermatozoides, delito sexual.



**UNIVERSITY OF CARABOBO
FACULTY OF HEALTH SCIENCES
SCHOOL OF BIOMEDICAL SCIENCES
DEPARTMENT OF PUBLIC HEALTH
T.S.U. CITOTECHNOLOGY
METHODOLOGY OF HEALTH RESEARCH**



**FACTORS THAT COULD MANIPULATE THE ANALYSIS OF SPERM CELLS IN
FORENSIC CYTOLOGICAL SAMPLES OF SEMINAL FLUID LINKED TO THE
CRIME OF SEXUAL ABUSE.**

AUTHORS:

**SÁNCHEZ ERICMAR
SÁNCHEZ DANIELYS**

**TUTOR:
OFFIR TARIBA
YEAR: 2021**

ABSTRACT

The forensic expertise performed on samples of human bodily fluids, such as semen, provides highly important evidence in criminal proceedings related to sexual crimes. The general objective of this study is to determine the factors that could manipulate the screening of sperm cells in forensic cytological samples of seminal fluid linked to sexual crime. The specific objectives are: to inquire about the control processes used to protect the physical evidence from sexual offenses; comprehend the expert methods for the identification of sperm cells in seminal fluid associated with sexual offenses; determine the factors that could manipulate sperm screening in forensic seminal fluid samples; inquire about the methods and techniques that are currently used in Venezuelan forensic laboratories to process seminal fluid samples corroborating investigations of sexual offenses. The research was carried out under a descriptive documentary design where data was obtained from the review and analysis section of multiple sources of information and documentation related to the subject of study. It is concluded that during the process of a criminal investigation for a sexual offense, biological samples of body fluids, such as semen, could undergo changes in their integrity, making their analysis and interpretation difficult and as such puts at serious risk the positive advancement of the investigation as well as the credibility in the results.

Keywords: investigation, sperm, sexual offense.

INDICE

CONTENIDO

CONSTANCIA DE APROBACIÓN	¡Error! Marcador no definido.
RESUMEN	iii
ABSTRACT.....	iv
INTRODUCCIÓN.....	6
DESARROLLO	8
CONTROL FORENSE.....	8
METODOS PERICIALES	11
FACTORES QUE AFECTAN LA MUESTRA CITOLÓGICA FORENSE.....	18
LABORATORIOS FORENSES VENEZOLANOS	19
CONCLUSIONES	20
RECOMENDACIONES.....	20
AGRADECIMIENTOS	22
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23
ANEXOS	25

INTRODUCCIÓN

Cuando una persona tiene contacto sexual con otra sin su consentimiento se trata de lo que se conoce como abuso sexual o violación. El abusador sexual obliga a su víctima a tener actividad sexual con él mediante el empleo de la fuerza física o intimidación ⁽¹⁾. Luego de cometido el hecho punible se inicia la acción penal correspondiente. En Venezuela, es el Ministerio Público el encargado de activar y conducir todo el proceso penal según el estamento legal vigente y tiene a su disposición institutos forenses de índole científico en los cuales se realiza la investigación, análisis y posterior comprobación del delito cometido.

Por otro lado, el Código Orgánico Procesal Penal (COPP), en su Artículo 187 señala que: "...la cadena de custodia es la garantía legal que permite el manejo idóneo de las evidencias digitales, físicas o materiales, con el objetivo de evitar su modificación, alteración o contaminación desde el momento de su ubicación en el sitio del suceso y el lugar de hallazgo, su trayectoria por las distintas dependencias de investigaciones penales, criminalísticas y forenses, la consignación de los resultados a la Autoridad competente hasta la culminación del proceso..." ⁽²⁾

De lo anterior se desprende que, es el Ministerio Público quien garantiza mediante la cadena de custodia el debido tratamiento técnico, científico y administrativo de las evidencias vinculadas al proceso penal a través de la aplicación de procedimientos que aseguren la integridad y autenticidad de la evidencia material una vez obtenida y hasta su disposición final ⁽²⁾.

No obstante, en el curso de la investigación podrían surgir inconvenientes o circunstancias indeseables (intencionales o no), que de alguna manera afectarían las evidencias físicas sobre todo las de naturaleza biológica como líquido seminal, sangre, saliva entre otras lo que dificulta su adecuado peritaje con la consecuente "duda razonable" al pretender emitir sentencia sobre el delito cometido por lo que, el principal sospechoso, podría ser excluido o descartado de la investigación bajo el argumento de "violación del debido proceso".

Es por ello que, la intervención oportuna del equipo técnico especializado debidamente autorizado y la impecable recolección de las muestras, especialmente las de naturaleza biológica, constituyen la vía más idónea para garantizar su correcto peritaje en los laboratorios forenses legalmente habilitados para encausar, entre otros, los delitos de índole sexual en los que la pesquisa de espermatozoides constituye la prueba definitiva aun cuando se realicen otros procedimientos. La citología como método de pesquisa es una prueba sencilla, rápida, económica, mínimamente invasiva, de alta sensibilidad y constituye actualmente la única prueba de certeza con la que cuenta la investigación forense para demostrar presencia de espermatozoides. De allí el interés de las autoras en estudiar los factores que podrían afectar la integridad de este tipo de muestras.

En base a los argumentos precedentes, la presente investigación centra su atención en el estudio de los factores que podrían afectar la pesquisa de células espermáticas en fluido seminal de muestras citológicas forenses vinculadas a delitos de índole sexual.

Objetivos específicos: indagar sobre los procesos de control forense para el resguardo de la evidencia física de naturaleza biológica proveniente de delito sexual; conocer sobre los métodos de peritaje empleados en el laboratorio forense para detectar presencia de Fluido seminal y células espermáticas en muestras biológicas vinculadas a delitos de índole sexual; determinar los factores que podrían afectar la pesquisa de células espermáticas en fluido seminal en muestras citológicas forenses vinculadas a delito sexual; indagar sobre los métodos y técnicas empleados actualmente en laboratorios forenses venezolanos para la pesquisa de células espermáticas.

Por otra parte, en relación a la metodología empleada, para realizar esta investigación se optó por un diseño documental tipo descriptivo mediante el análisis de diversas fuentes de información y documentación, incluyendo entrevista realizada a expertos a fin de garantizar la objetividad y pertinencia de los aspectos que describen el problema objeto de este estudio.

Finalmente, se espera que la información aportada en esta investigación ayude a incrementar el conocimiento y comprensión sobre el problema planteado y motive la realización de futuras investigaciones en esta área del conocimiento, además de contribuir a minimizar posibles debilidades en nuestro Sistema Procesal Penal en la consecución de una justicia verdadera.

DESARROLLO

La correcta interpretación de las pruebas aplicadas a la evidencia forense solo es posible mediante el tratamiento adecuado de la misma, lo que implica la adopción de medidas tendientes a proteger y asegurar su integridad para garantizar el debido proceso.

Antecedente

De la exploración bibliográfica llevada a cabo encontramos la tesis doctoral de Garzón (2017) titulado "La prueba de ADN en el proceso penal", de la escuela internacional de doctorado EIDUNED, España, cuyo objetivo fue examinar y valorar el proceso judicial, las pruebas y personas implicadas en un presunto delito. Donde La información aportada contribuyó significativamente a la comprensión sobre los procedimientos del control forense para garantizar el correcto peritaje de muestras seminales. (3)

CONTROL FORENSE. Procesos y resguardo de evidencias físicas

Consiste en un conjunto de procedimientos y actividades de carácter continuo, destinadas a brindar protección y conservación a las evidencias físicas en espacios especializados, desde el momento de su recepción en el Área de Resguardo, hasta su egreso para peritaje, disposición judicial o final. Las Áreas de Resguardo son los espacios físicos especializados y acondicionados para el proceso de resguardo, operado por personal debidamente capacitado. El Manual Único de custodia norma las pautas para la remisión, recepción, depósito y salida de evidencias físicas, con la finalidad de optimizar, unificar y hacer de obligatorio cumplimiento, los lineamientos del Proceso de Resguardo (2)

Etapas del resguardo temporal

- Posterior a la obtención hasta su remisión al área de resguardo o al laboratorio.
- Luego de su recepción en el laboratorio hasta su transferencia al perito asignado para su análisis.
- Luego del análisis hasta su salida del laboratorio.
- Desde su remisión del laboratorio hasta su paso al resguardo judicial o la ejecución de una disposición final.

Procedimientos del proceso de resguardo

Procedimiento de ingreso

En este aparte se especifica el conjunto de atributos que debe reunir la evidencia y considerar si son aptas para su aceptación en el Área de Resguardo; y aplicar los procedimientos para el recibo de la misma.

Los lineamientos asociados al Ingreso de Evidencias en el Área de Resguardo son:

- Sólo se recibirán evidencias que cumplan con los lineamientos establecidos para la remisión de evidencias al área de resguardo.
- Toda evidencia objeto de recepción, deberá estar acompañada de la correspondiente planilla de Registro de Cadena de Custodia. El operador, estará obligado a suministrar los datos de identificación que le sean requeridos para su recepción.
- No se recibirán evidencias de manos de operadores distintos a los indicados en la planilla de Registro de Cadena de Custodia.
- Los operadores del área de resguardo son responsables de canalizar el almacenamiento de las evidencias que presenten impedimentos para su ubicación en los espacios disponibles
- Las evidencias que por su naturaleza puedan generar un alto riesgo para la infraestructura o el personal que labora en el área de resguardo, tales como sustancias o artefactos explosivos entre otros no serán recibidas. En estos casos el órgano o institución deberá ubicar un lugar acorde para su almacenamiento previa notificación al Fiscal del Ministerio Público.
- Las diferencias en las condiciones y características de las evidencias expresadas en la Planilla de Registro de Cadena de Custodia, en relación a las que presente dicha evidencia al momento de su entrega, serán motivo para no recibirla, salvo que se haya plasmado en acta o en la parte de observaciones de la Planilla de Registro de Cadena de Custodia (PRCC).

Procedimiento de depósito

Los lineamientos asociados al depósito de evidencias en las áreas de resguardo son:

- El almacenamiento de las evidencias se realizará en un recinto denominado depósito de evidencias, cuya infraestructura deberá garantizar las condiciones idóneas de seguridad y resguardo, a fin de impedir su extravío, sustitución o modificación.
- El acceso al depósito de evidencias únicamente estará permitido a las personas que laboren en el mismo. Bajo ningún concepto se permitirá la entrada o permanencia de personal, sin la debida supervisión del personal adscrito a dicho lugar.

Procedimiento de egreso

Los lineamientos asociados al egreso de evidencias del área de resguardo son:

- Las evidencias sólo podrán salir del área de resguardo, bajo disposición expresa y por escrito, emanada del Fiscal del Ministerio Público o del Tribunal a la orden de quien se encuentren.
- La entrega de evidencias físicas sólo se hará a la o las personas debidamente mencionadas en el oficio de solicitud de egreso, previa presentación de los documentos necesarios para verificar su identidad
- Cualquier cambio de despacho Fiscal o de Tribunal a la orden del cual se encuentra la evidencia en el área de resguardo, deberá ser notificado previamente por escrito.

- No se entregarán evidencias a operarios que no sean los autorizados por el despacho que tenga bajo su responsabilidad el destino.
- Quien autoriza y quien hace efectiva la entrega en el área de resguardo, serán responsables del cumplimiento de lo dispuesto en el Manual Único de Custodia para la salida de evidencias.
- Es obligación de quien entrega y quien recibe la evidencia, la verificación y certificación de la conformidad respecto a lo que se entrega y se recibe, de lo cual se dejará constancia por escrito a través de la planilla de registro de cadena de custodia.

Consideraciones generales para la instalación y funcionamiento de las áreas de resguardo

- La finalidad de las áreas de resguardo de evidencias será la de garantizar la autenticidad e inalterabilidad de la evidencia durante su permanencia en las mismas.
- Cada laboratorio deberá contar con un área para resguardar transitoriamente las evidencias físicas mientras son procesadas en fase de laboratorio. Resguardo, previamente establecida para la remisión y almacenamiento de las evidencias relacionadas con los casos procesados, hasta la finalización de la etapa de investigación del proceso penal o disposición final.
- Las Áreas de Resguardo Judicial deberán tener a su disposición un lugar previamente establecido para la recepción y almacenamiento de las evidencias físicas relacionadas con los casos
- Las Áreas de Resguardo de Evidencias Físicas estarán destinadas únicamente al almacenamiento de evidencias relacionadas con procesos penales en curso, hasta tanto se ordene la disposición final.
- Las evidencias físicas que serán depositadas en las Áreas de Resguardo, deberán cumplir con los parámetros de embalaje y rotulado, destinados a asegurar su preservación e identificación.
- Cada Área de Resguardo deberá elaborar los instructivos necesarios en los cuales se especifiquen las pautas para la remisión de evidencias físicas, así como las referidas a la revisión, recepción, registro y almacenamiento de estas evidencias, apegados siempre al presente manual.
- La infraestructura para el funcionamiento de las áreas de resguardo de evidencias físicas, deberá poseer el espacio físico necesario para el adecuado almacenamiento de las evidencias, evitar su hacinamiento y garantizar el fácil acceso-
- La infraestructura donde funcionen las áreas de resguardo de evidencias físicas deberán poseer los mecanismos de seguridad necesarios para impedir el acceso a las evidencias de personas no autorizadas y la prevención de posibles daños
- El personal a cargo de las distintas labores en las Áreas de Resguardo de Evidencias Físicas, deberá estar debidamente capacitado.

- Deberá existir copia o respaldo de los sistemas de registro y control de evidencias físicas del área de resguardo, la cual será depositada en un lugar diferente a dicha área, manteniéndose las correspondientes medidas de seguridad...
- Toda salida provisional o definitiva de la evidencia del área de resguardo, deberá ser documentada en los sistemas de registro y control, así como en la correspondiente PRCC.
- Todas las evidencias físicas a ser depositadas en un Área de Resguardo de evidencias deberán estar acompañadas de la correspondiente PRCC.
- En las Áreas de Resguardo se deberá realizar un inventario periódico que no exceda de un año y cuando se sustituya el responsable del área. Para ello deberá existir un Registro que contenga la cantidad total de evidencias depositadas...
- En las áreas de Resguardo sólo se recibirán las evidencias físicas que sean entregadas por la persona que aparece registrada como último responsable en la Planilla de Registro de Cadena de Custodia, salvo circunstancias excepcionales deberá quedar debidamente documentado en la parte de observaciones de la PRCC.
- El Área de Resguardo está concebida únicamente como unidad receptora, depósito y custodia de evidencias físicas, motivo por el cual no tendrá injerencia o responsabilidad en los procesos de traslado de evidencias hacia dicha área....
- Finalizado el proceso legal, en ningún caso la evidencia podrá permanecer depositada en el Área de Resguardo por tiempo indefinido;...

Este aparte se refiere a los lineamientos que se deberán cumplir para la remisión de evidencias desde los sitios de envío hacia el Área de Resguardo--

- Al área de resguardo, sólo se remitirán evidencias que se encuentren relacionadas con procesos penales en curso y que estén debidamente documentadas en la causa correspondiente.- Únicamente las evidencias que hayan sido sometidas a peritaje deberán ser remitidas al Área de Resguardo Judicial, salvo las que requieran nuevos análisis.
- La remisión de la evidencia al Área de Resguardo se hará mediante el uso de su Respectiva Planilla de Registro de Cadena de Custodia. (Anexo 1)

METODOS PERICIALES

Antecedente

De la revisión bibliográfica llevada a cabo encontramos el trabajo de Frías (2017) titulado "Comparación de la técnica de eosina y cristmas tree para el rastreo de espermatozoides en caso de delito sexual ", Instituto de Ciencias Forenses de Ambato, Ecuador. cuyo objetivo fue comparar la eficacia de ambas técnicas de tinción para demostrar presencia de espermatozoides utilizando para ello 107 muestras de fluido seminal obtenido de vagina luego del coito donde 67 de ellas dieron positivo para espermatozoides concluyendo que la eosina podría ser una alternativa para la coloración y detección de células espermáticas. La información aportada contribuyó significativamente a la comprensión sobre la metodología y procedimientos que se realizan en el laboratorio forense particularmente en lo relacionado con el peritaje de muestras seminales. (4)

Procesamiento de muestras biológicas en caso de delito de índole sexual

La aplicación de métodos, técnicas y procedimientos a la evidencia física permiten la obtención de un resultado, mediante el desarrollo de los siguientes pasos:

Valoración: Apreciación del contexto de la solicitud con relación a la evidencia, a fin de planificar las técnicas que se van a aplicar.

Descripción: Detallar las características generales, particulares y detalles de la evidencia para identificarla y dejar constancia del estado en que se encuentra.

Análisis: Conjunto de métodos, técnicas y procedimientos que serán aplicados a la evidencia a fin de dar cumplimiento al objetivo de la peritación.

Interpretación de resultados: Evaluación de los datos resultantes con el propósito de generar las conclusiones correspondientes.

Conclusión: Es un juicio de valor que realiza el forense en función de la interpretación de los resultados.

Dictamen Pericial: Documento estructurado donde el forense plasma detalladamente la experticia realizada (2).

En general, para su análisis, se requiere de poca cantidad de fluido de naturaleza seminal para su identificación en el laboratorio de biología forense; las muestras pueden ser escasas o estar degradadas en caso de utilización de preservativos, espermicidas, métodos que minimicen la eyaculación o en individuos azoospermicos (ausencia de espermatozoides) u oligospermicos (poca cantidad de semen). Aunque se pueda suponer la existencia de semen en el lugar del delito, la confirmación definitiva se realizará en el laboratorio con la finalidad de obtener indicios de presunto material de naturaleza seminal a partir de la víctima en hisopados vaginales, hisopados anales, secreciones vaginales, apéndices pilosos y manchas; además de los ubicados en soportes físicos diversos como textiles, objetos, entre otros (5).

Métodos según el soporte de la muestra.

1. Si la mancha se encuentra en un objeto transportable, por ejemplo, textiles, será colectada evitándose fricciones en las áreas de interés, siendo éstas manipuladas con estricto cuidado, con la finalidad de evitar cualquier tipo de contaminación de la muestra.

2. Si la mancha se encuentra seca o fresca sobre una superficie que no se pueda transportar, el material se debe coleccionar mediante macerado con hisopo estéril humedecido con agua destilada, el cual debe ser embalado en recipientes estériles. En el caso de que la muestra este seca sobre una superficie evitar realizar un raspado de la misma.

3. Si se trata de un material fresco que no puede ser enviado con prontitud al laboratorio, el soporte que lo contiene debe ser sometido a secado a temperatura ambiente, antes de proceder a su embalaje por separado.

4. Si la muestra a coleccionar se encuentra en cavidades fisiológicas (vagina, recto, entre otros), el médico forense o el técnico deberá practicar extendidos en láminas portaobjetos estériles; las muestras serán llevadas con la mayor prontitud posible al laboratorio para el respectivo análisis (5)

Análisis de las evidencias de presunta naturaleza seminal

Se realiza con la finalidad de determinar si el material obtenido es o no líquido seminal.

Método:

Cada evidencia es sometida a un análisis físico o reconocimiento legal lo cual consiste en una descripción de la evidencia que va de lo general a lo particular (tipo de evidencia, uso, color, etiqueta o talla, adherencias que presenta, su morfología y el estado en que se encuentra la misma) (5)

1) **Método de orientación:** El sobrenadante obtenido del macerado practicado a la muestra en estudio se le aplica la técnica cristalográfica fundamentada en la Reacción de Florence.

Reacción de Florence

Técnica cristalográfica basada en la formación de cristales de yoduro de colina, la cual se encuentra presente en el esperma en forma de fosforil-colina y lecitina. La morfología de los cristales son lanceolados pero de dimensiones y morfología variable. Los cristales de Yoduro de Colina son láminas romboidales de color pardo. Aunque la colina no es exclusiva del semen, resulta sumamente útil en el análisis de muestras de esperma aspérmicas, principalmente porque no se conocen otros fluidos que registren simultáneamente una alta presencia de colina junto con fosfatasa ácida como en el esperma (Rivas, 2001).

Ensayo Fosfatasa Ácida Prostática (AcP prostático)

Ensayo colorimétrico basado en la reacción Enzima-Sustrato (Kit comercial para la detección de la enzima fosfatasa ácida prostática en suero humano). La Fosfatasa Ácida Prostática es una enzima fosfomonoesterasa no específica, se encuentra en niveles altos en el semen (isoenzima prostática), proviene de las células epiteliales de la glándula prostática (Gutman, Gutman, 1941). La detección de la fuerte actividad de la enzima es considerado como un rápido y confiable indicador de la presencia de semen (Sensabaugh, 1979). El ensayo permite una prueba rápida de identificación de manchas de semen, en la que una reacción positiva (coloración amarillo) es un indicativo de la presencia de la enzima fosfatasa ácida prostática (Kobus, 2002).

2) Método de certeza

Luego de comprobar la presencia de líquido seminal se procede a demostrar la presencia de células espermáticas mediante el análisis microscópico de la muestra de líquido seminal.

Para la comprobación de abuso sexual o violación se utiliza un procedimiento denominado tinción el cual consiste en aplicar un colorante a una sustancia o a un tejido para que resulte más simple detectarlo y analizarlo (6). En el abuso sexual, la tinción hace posible la mejor definición de grupos de células o de fragmentos de tejido para la identificación de sustancias de naturaleza seminal.

Es conveniente conocer que el espermatozoide es la célula reproductora masculina. Es una célula haploide por lo que solo contiene 23 cromosomas. Los espermatozoides constan de tres regiones (anexo 2): **la cabeza, contiene el núcleo haploide cubierto por el acrosoma y un par de centriolos detrás del núcleo.** En ella se encuentra la cromatina y, toma la tinción más fuerte debido a su contenido proteínico elevado lo que favorece el estudio morfológico. El acrosoma contiene enzimas como la hialuronidasa y la acrosina que facilitan la penetración del espermatozoide al ovocito (6), **Segmento intermedio o cuerpo:** región que une la cabeza con la cola y contiene la carga mitocondrial que provee la energía necesaria (ATP) para la movilidad del espermatozoide. **Cola o flagelo:** da movilidad al espermatozoide (6).

Para estos casos se utilizan coloraciones como la tinción:

Árbol de navidad (Christmas Tree, Fast Red)

Que es una de las más difundidas y aceptadas por la comunidad científica forense. Esta tinción utiliza los colorantes rojo rápido nuclear y pícrico índigo carmín. La cabeza del espermatozoide se tiñe de color rosado fuerte a rojo y el acrosoma se tiñe rosado pálido. La parte media se tiñe de una coloración que va de rojo fuerte a lila debido al colorante rojo rápido nuclear. La cola se teñirá de una coloración verde debido a la acción del picro índigo

carmin, También se tiñen las células epiteliales presentes, observándose como estructura romboides con núcleos de color rosada/rojo (7)

Método

Rojo rápido nuclear kernochrot

1. Rojo rápido nuclear 100mg
2. Sulfato de aluminio 5g
3. Agua destilada 100ml

Pícrico índigo carmín

1. Ácido pícrico 300 ml
2. Índigo carmín 1g

- Cubrir con colorante kernechtrot por 20 minutos.
- Aclarar con etanol 95%.
- Cubrir con colorante pícrico índigo carmín por 10-15 segundos.
- Lavar con agua destilada.
- Dejar secar.
- Observar 40x.
- Reportar presencia o ausencia de espermatozoides.
- Tomar foto.(7)

Otra técnica empleada es la Técnica de Mestre y Lecha Marzo.

El procedimiento de la técnica se basa en el empleo de yodo eosina fenicada, combinando 0.1 g de yodo eosina y 10 ml de ácido fénico líquido; los resultados son excelentes y la técnica es muy sencilla y aplicable a la práctica diaria del laboratorio.

Separados algunos milímetros de fibras de la zona más sospechosa, se colorea el portaobjeto con una capa de reactivo; al cabo de 1 minuto se absorbe el reactivo con papel de filtro, se añade una gota de ecipanal, se disocian las fibras y se coloca la lámina cubre objeto. Aparecen los espermatozoides teñidos de rojo, más intensamente las cabezas que las colas. Las fibras del tejido apenas toman un ligero tinte, lo que no impide el contraste de los zoospermos. (8-9)

Tinción Pap-Mart

Resultado de una modificación de la tinción de Papanicolaou definida como una técnica diferencial (policrómica) que consta de una tinción nuclear y contraste citoplasmática, desarrollada para visualizar los distintos estadios de maduración de las células

pavimentadas vaginales, esta tinción no es específica para identificación de muestras seminales, no obstante proporciona un buen contraste que permite la visualización e identificación de la célula espermática.

Método

Pasos

1. Hidratación.
2. Coloración nuclear.
3. Deshidratación.
4. Coloración citoplasmática.
5. Diferenciación de colorante.
6. Aclaramiento y montaje.

Como paso inicial hidratar la muestra con una solución 50% agua 50% alcohol, luego se realiza la coloración nuclear con hematoxilina de Mayer la cual se diferencia con agua, seguidamente se deshidrataran las muestras con tres alcoholes en forma creciente, se prosigue la coloración citoplasmática con Pap-mart formado por ver luz, pardo birsmarck eosina amarillenta, Acido fosfotúngstico y Orange G, que posteriormente se diferenciara entre tres alcoholes puros, una vez finalizado este paso se procede a realizar el aclaramiento con xilol y por último se realizó el montaje de la lámina con resina acrílica. (10)

Tinción de Zielh-Neelsen

Se basa en la resistencia ácido-alcohol (AAR), capacidad que tiene un material biológico de formar complejos ácido-estables con colorantes arilmetánicos (Youmans, 1979). Las estructuras o bacterias teñidas con Zielh-Neelsen no son decoloradas al exponerlas a mezclas de alcohol-ácido o a determinadas concentraciones de ácidos minerales. Muchas estructuras y bacterias son AAR (Barksdale y Kim, 1977), entre ellas, los espermatozoides. Aunque esta tinción no es específica para identificación de muestras seminales, no obstante proporciona un buen contraste que permite la visualización e identificación de la célula espermática.(5)

Método

1. Realizar un extendido del sedimento sobre una lámina portaobjeto empleando una pipeta Pasteur.
2. Dejar secar a temperatura ambiente.

3. Agregar metanol a la superficie del portaobjetos, y fijar con calor empleando el mechero de Bunsen, flameando 7 veces la lámina.
4. Agregar el colorante Ziehl-Neelsen cubriendo la muestra, manteniéndola por 7 minutos, lavar la lámina con agua destilada.
5. Agregar el colorante Azul de Metileno cubriendo la muestra, manteniéndola por 5 min, lavar con agua destilada.
6. Dejar secar a temperatura ambiente.
7. Observar la lámina portaobjetos al microscopio con el objetivo de inmersión 100x, añadiendo 1 gota de aceite de inmersión. (Ver anexo 3)

PRUEBA PERICAL DE ADN

En el transcurso de la investigación penal podría solicitarse la incorporación de una prueba de ADN para conocer el perfil genético del presunto agresor.

Prueba pericial de ADN independientemente de la técnica utilizada, en el proceso penal, que consiste en la comparación de la composición de ADN de una muestra dubitada -aquella que en principio no se sabe a qué sujeto pertenece, y otra indubitada -obtenida de la persona sospechosa. Con el fin de comprobar la coincidencia de los marcadores genéticos de ambas.⁽¹¹⁾

A la hora de poder acotar una prueba de cotejo de ADN y que dicha prueba pueda ser incorporada al proceso como prueba de cargo, es preciso la combinación de tres actividades. La primera: su realización por laboratorios debidamente acreditados para ello en sentido estricto. Lo segundo: contar con muestras o vestigios biológicos con contenido celular sobre los que realizar dichos análisis; muestras que son aportadas por la policía en la inspección

Técnica ocular del lugar del crimen o son extraídas de las personas relacionadas con el mismo (para lo último se requiere la práctica de intervenciones sobre el cuerpo de las personas afectadas), lo que precisa de la mayor inmediatez posible. Lo tercero: su conservación. Los Estados han optado por conservar los datos resultantes del análisis, incorporándolos a ficheros o bases de datos.⁽³⁾

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La PCR se basa en la amplificación de determinadas regiones del ADN mediante la enzima Taq-polimerasa de secuencias cortas de DNA. Tanto el DNA como el RNA pueden extraerse de manera exitosa en muestras de toma citológica, tanto en fresco, como de material fijado en alcohol y teñido. La utilidad diagnóstica para el análisis de ADN se ha

convertido en una herramienta crucial en la identificación del o los sospechosos en los casos de abuso sexual.

PCR múltiple (en inglés *multiplex*), que permite la amplificación simultánea de un gran número de STRs en un solo paso o PCR. Existen actualmente un sinnúmero de *kits* para la amplificación simultánea de los loci de STRs (también llamados marcadores genéticos). (11)

Microdissección

Un aspecto interesante de la citología es la posibilidad de la microdissección laser que es un método de contacto sin contaminación para aislar células individuales específicas o áreas enteras de tejido de una gran variedad de muestras de tejidos a partir del material obtenido por microdissección se realiza una extracción de DNA o RNA seguido de una PCR. (11)

FACTORES QUE AFECTAN LA MUESTRA CITOLÓGICA FORENSE

Dadas las diversas indagaciones se tomó en cuenta la investigación realizada por Salcedo (2015), titulado "Evaluación de la Persistencia de espermatozoides Humanos en la vagina" Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali. Colombia cuyo objetivo fue evaluar la persistencia de espermatozoides en muestras de frotis vaginales postcoitales a diferentes tiempos durante 5 días a mujeres voluntarias; se recolectaron 18 muestras observándose en el 60% de ellas en las primeras 72 horas, más de 10 espermatozoides por campo; a las 128 horas 10% de ellas tenían más de 5 espermatozoides y 2% con 1 espermatozoide por campo, observándose por tanto una disminución marcada del número de espermatozoides y en do de ellas con una abundante reacción leucocitaria y alta densidad de levaduras, hifas, pseudohifas y bacteria. La información aportada contribuyó significativamente para determinar los factores que afectan la pesquisa de células espermáticas, destacando el efecto del factor "tiempo" en la integridad de los espermatozoides al generar cambios degenerativos y la merma en la cantidad de estas células en la muestra. (12)

El tiempo de permanencia de los espermatozoides en la cavidad vaginal depende de factores como el pH de la vagina, el lavado vaginal, presencia de la menstruación, infecciones vaginales, el ejercicio físico y la cantidad de espermatozoides en el eyaculado hacen que el tiempo cambie. Alguna literatura relacionada con la investigación forense indica que se ha detectado espermatozoides hasta seis días después del coito. Puede suceder que en la muestra recolectada no se encuentren espermatozoides, esto puede deberse a la ausencia de semen en la muestra, 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 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.⁽¹³⁾

El tiempo que transcurre entre el momento que se produce el abuso sexual hasta momento de la colección de la muestra, el soporte utilizado, el tipo de embalaje, las condiciones climáticas a las cuales están expuestas tanto la prenda, la muestra o el elemento a analizar permitiendo la degradación de la misma además de factores ambientales exógenos como el sol, la humedad, entre otros, que favorecen la proliferación de hongos y bacterias que pueden acelerar la destrucción del material celular⁽¹⁴⁾.

LABORATORIOS FORENSES VENEZOLANOS

En los laboratorios forenses del país el procedimiento para la pesquisa de células espermáticas de fluido seminal se obtiene utilizando diferentes métodos destacando entre ellos el Zielh-Neelsen como método estándar, por lo tanto no se utiliza la coloración de mayor uso internacionalmente es decir, la coloración "Árbol de Navidad". Por otro lado, no todos los estados del país cuentan con laboratorios forenses y solo en la capital de la República se realizan pruebas de ADN y genéticas ⁽¹⁵⁾

CONCLUSIONES

La preservación de la integridad de las células espermáticas es un procedimiento necesario y de obligado cumplimiento cuya responsabilidad recae en su totalidad en el organismo del Estado legalmente autorizado, es decir el Ministerio Público y, a través de la cadena de custodia, es como se implementa este mandato con el fin de velar por el debido proceso.

El dictamen emitido por los laboratorios forenses en los casos de delitos sexuales, entre otros, constituye la evidencia irrefutable de la comisión del delito ya que por su carácter científico son garantía de rigurosidad y certeza apoyándose en métodos y técnicas específicos para cada tipo de muestra.

La presencia de espermatozoides en muestras de líquido seminal provenientes de abuso sexual constituye la prueba definitiva para corroborar la identidad del victimario.

El tiempo es el factor que mayormente afecta la integridad de los espermatozoides ya que, a mayor tiempo transcurrido entre el acto sexual y la toma de muestra y, entre ésta y la consignación de la evidencia en el laboratorio forense, menor será la probabilidad de éxito de la pesquisa.

Solo en algunos estados de Venezuela existen laboratorios forenses habilitados y con capacidad para procesar fluidos corporales, entre ellos líquido seminal vinculado a delito sexual.

La coloración específica para la identificación microscópica de espermatozoides no es procedimiento de rutina en laboratorios forenses venezolanos.

RECOMENDACIONES

Dada la fragilidad que caracteriza las muestras biológicas se sugiere reforzar los procedimientos relacionados especialmente con la fijación, recolección y embalaje de este tipo de muestras en la cadena de custodia.

Es deseable que todo el personal vinculado al área penal tenga conocimientos en el área forense, incluyendo a jueces, fiscales y abogados defensores a objeto de lograr una mejor interpretación y comprensión en la investigación penal.

El Ministerio Público debe incrementar el número de funcionarios con formación en áreas vinculadas a las Ciencias Biológicas ya que el avance biotecnológico impone cambios de paradigmas insospechados.

Se recomienda implementar el uso de la coloración específica para la detección de células espermáticas (Fast Red) en los laboratorios forenses venezolanos por cuanto su eficiencia y eficacia ha sido ampliamente demostrada y reconocida.

AGRADECIMIENTOS

Nos gustaría reconocer a nuestros docentes por todo el conocimiento brindado durante el transcurso de nuestra carrera en especial a nuestra tutora Lcda. Offir Tariba por su dedicación, paciencia y tiempo. De igual forma, a la Lcda. Andrea Araque y al Inspector Agregado Rafael Rodríguez. A Keira Lara, Directora del Laboratorio de Criminalística del CICPC San Agustín Caracas por brindarnos la información durante la realización de este trabajo siendo nuestros asesores científicos.

A nuestra familia en especial a nuestros Padres Moira, Euris y Alejandra, Hermanos Eurimar, Antonio y José Alejandro, Tíos Lisbeth y Henry, Amigos incondicionales por el apoyo absoluto durante este proceso.

Y por último, pero no menos importante, agradecerle a Dios por la sabiduría, los conocimientos y el entendimiento obtenido durante nuestra carrera universitaria.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Mundial de la Salud. Violencia sexual, comprender y abordar la violencia contra las mujeres. [Internet]. Washington: Organización Panamericana de la Salud, Sarah Ramzy; 2013. Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/98821/WHO_RHR_12.37_spa.pdf;jsessionid=06D0B63668209D6F27F4C64EA0ADA610?sequence=1/.
2. Saab-Halabi T; Reverol-Torres N. Manual Único de Cadena de Custodia de Evidencias Físicas. Venezuela; 2017; Pág. 53-63.
3. Garzón-Flores J, La prueba de ADN en el proceso penal, programa de doctorado en unión europea, España; 2017, pág 16-18
4. Frias-Garcia J; 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. Ecuador; 2017; Pág. 15-16.
5. Cabrita R; Freile P; Rosales O. Manual de procedimientos para la colección de evidencias de origen biológico y sus respectivos análisis; Venezuela CICPC; 2019; Pág. 33-42.
6. Toro-Montoya A; Espermograma; Medicina y laboratorio; Editora medica colombiana S.A; Antioquia; 2009; (15) números 3-4 pág. 147
7. García M., Asociación de resultados obtenidos en análisis para la detección de semen y espermatozoide y la obtención de perfiles genéticos de sospechosos de violación sexual, Guatemala, 2012, pág. 14-15.
8. Royo-Villanova R, Aznar B. Pig lecciones de medicina legal [Takelessons in legal medicine]. [Place unknown: publisher unknown: date unknown] volar 1. p. 470. Spanish.
9. Simonin C. Medicina legal judicial [judiciary medicine legal]. 2nd ed. Barcelona. jim; 2015 p. 909-907. Spanish
10. Cannova D., Brito E.; Simons M.; evaluacion de tecnica de coloración, 2016; Pág 15-16.
11. Ayón M., Biología Forense, 1a editorial Tucumán, Fundación Miguel Lillo, Libro digital, PDF, Argentina, 2019, pág 168
12. Salcedo-cifuentes M; Evaluativo de la persistente de espermatozoides humanos en la vagina; Medicina & laboratorios, 2015;21: pág. 14-160
13. Cuisa-Campana C; Labor de la sección de biología forense en la investigación de Delitos sexuales en el instituto de investigaciones forenses idif Sucre; Archivos Bolivianos de Medicina; 2011; Vol. (16) N° 84; pág. 15.
14. (Entrevista) Inspector Rafael Rodríguez. Cuerpo de Investigación Científica Penal y Criminalística (CICPC) sub delegación Plaza de Toros. Valencia, Venezuela, 2018.

15. (Entrevista) Realizada a la Dra.Keira Lara Directora del Laboratorio de Criminalística del CICPC San Agustín Caracas Venezuela, 2021.

ANEXOS

Modelos Acta ⁽¹⁾

CADENA DE CUSTODIA DE EVIDENCIA FÍSICAS	
Acta de Obtención Técnica	
DATOS GENERALES	
N° expediente _____ N° de PRCC: _____ Organismo _____ Oficina que instruye _____ Dirección de Obtención _____ Escenario: Lugar <input type="checkbox"/> Persona <input type="checkbox"/> Cadáver <input type="checkbox"/> Vehículos <input type="checkbox"/> Fecha _____ Hora _____	
OPERARIOS QUE OBTIENEN LA EVIDENCIA	
Colección: Nombre y Apellido _____ C.I. o Credencial _____	pulgar derecho  Firma _____
Fijación: Nombre y Apellido _____ C.I. o Credencial _____	pulgar derecho  Firma _____
DESCRIPCIÓN DE LA EVIDENCIA	
_____ _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____	
Continucción Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>	
OBSERVACIONES	
_____ _____ _____	
<small>Nota: el Acta de Obtención de la Evidencia debe reposar en el expediente, desde el instante de la remisión de las evidencias para el procesamiento en el laboratorio, con tantas copias como copias tenga el expediente.</small>	

CADENA DE CUSTODIA DE EVIDENCIA FÍSICAS
Acta de Obtención por Aseguramiento

DATOS GENERALES

N° expediente _____ N° de PRCC:- _____
 Organismo _____ Oficina que instruye _____
 Dirección de Obtención _____
 Escenario: Lugar Persona Vehículos Fecha _____ Hora _____

OPERARIOS QUE OBTIENEN LA EVIDENCIA

Colección-Poseción: Nombre y Apellido _____ C.I o Credencial _____	pulgar derecho	<input style="width: 100px; height: 40px;" type="text"/>
Firma _____		
Fijación: Nombre y Apellido _____ C.I o Credencial _____	pulgar derecho	<input style="width: 100px; height: 40px;" type="text"/>
Firma _____		

DESCRIPCIÓN DE LA EVIDENCIA

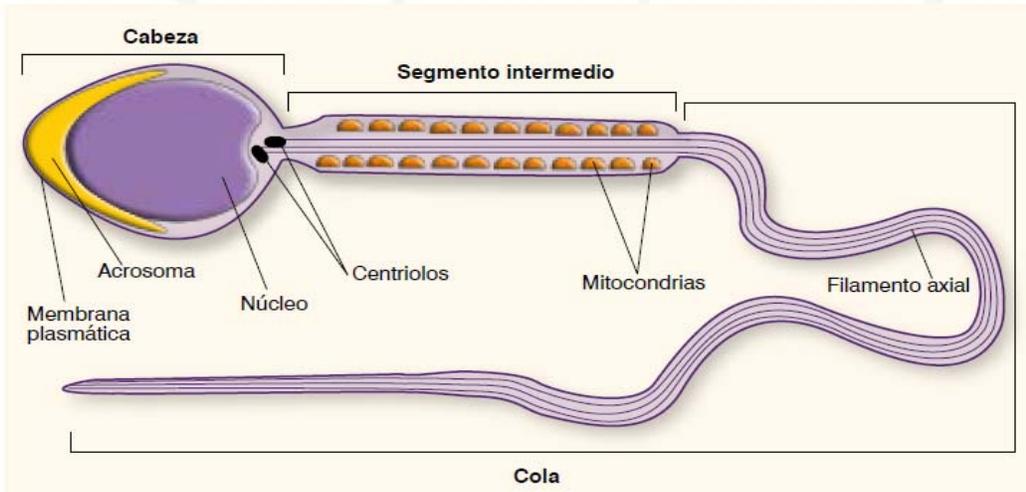
Continuación Si No

OBSERVACIONES

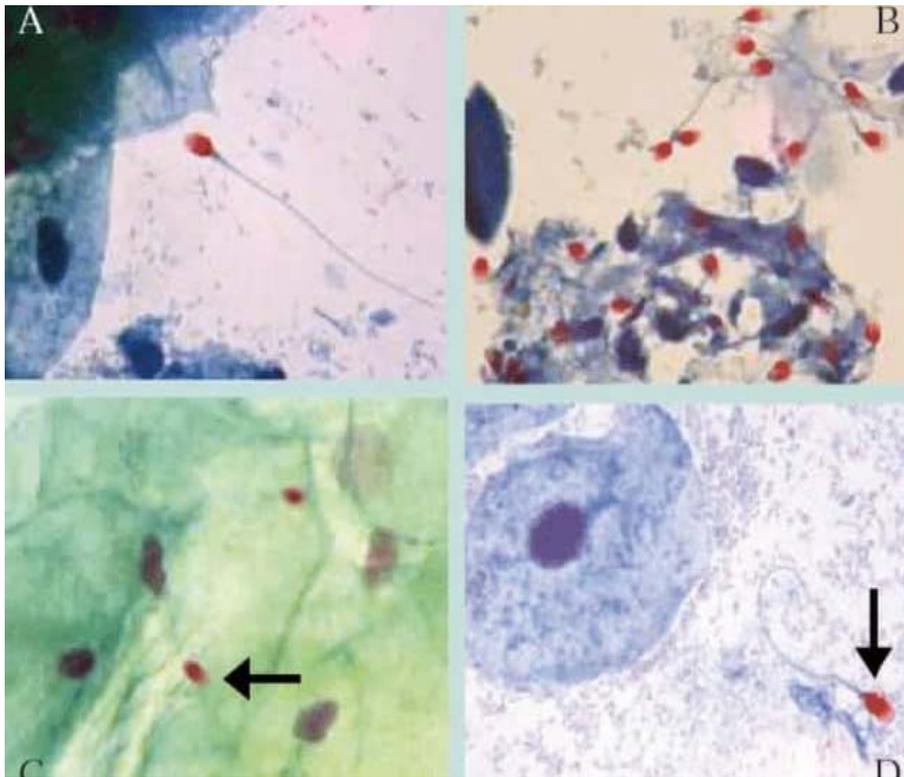
Nota: el Acta de Obtención de la Evidencia debe reposar en el expediente, desde el instante de la remisión de las evidencias para el procesamiento en el laboratorio, con tantas copias como copias tenga el expediente.

CADENA DE CUSTODIA DE EVIDENCIA FÍSICAS	
Acta de Disposición Final	
DATOS GENERALES	
N° expediente _____ N° de PRCC: _____	
Organismo _____ Oficina que instruye _____	
Dirección de Disposición Final _____	
Formas: Devolución <input type="checkbox"/> Entrega <input type="checkbox"/> Destrucción <input type="checkbox"/> Consumida <input type="checkbox"/> Fecha _____ Hora _____	
OPERARIOS QUE CIERRAN LA CADENA	
Ejecución: Nombre y Apellido _____ C.I o Credencial _____	pulgar derecho <div style="border: 1px solid black; width: 40px; height: 40px; display: inline-block;"></div> Firma _____
Fijación: Nombre y Apellido _____ C.I o Credencial _____	pulgar derecho <div style="border: 1px solid black; width: 40px; height: 40px; display: inline-block;"></div> Firma _____
DESCRIPCIÓN DE LA EVIDENCIA	
<hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/>	
DESCRIPCIÓN DEL PROCESO DE CIERRE	
<hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/>	
OBSERVACIONES	
<hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/>	
<small>Nota: el Acta de Disposición Final de la Evidencia debe reposar en el expediente, una vez cerrado el proceso.</small>	

Estructura del Espermatozoide (2)

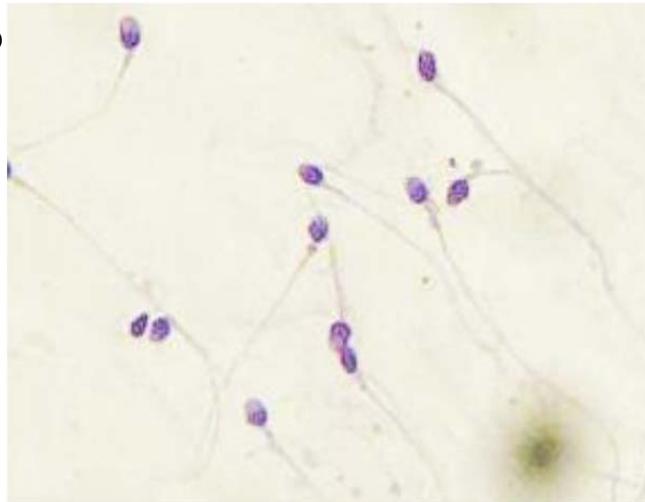


Tinción Árbol de Navidad (Fast nuclear red. Objetivo 100x)₍₄₎



- a) Muestra citológica normal con presencian de célula espermática.
- b) Abundantes células espermáticas en secreción vaginal post-mortem.
- c) Observaran célula espermática en un Frotis menstrual.
- d) Espermatozoide donde se observa el acrosoma nuclear.

Tinción de Ziehl Neelsen (3)



Tinción Pap-Mart

