

# UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



**Efecto del tiempo y la temperatura sobre el  
Antígeno Prostático Específico (PSA) y las células  
espermáticas en manchas de telas de interés  
forense. Ayacucho 2019.**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
BIÓLOGO EN LA ESPECIALIDAD DE MICROBIOLOGÍA**

Presentado por el:

Bach. SALVATIERRA SAUÑE, Carlos Junior

AYACUCHO – PERÚ

2020

A mis padres Sonia y Carlos, a mis hermanos Yumei y Eduardo por estar siempre conmigo para motivarme a salir adelante.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga por acogerme en sus aulas y materializar mi formación como profesional.

A la Facultad de Ciencias Biológicas, por ser mi segundo hogar, en la que logré materializar mis estudios en la carrera profesional de Biología.

Al Dr. David Cueva Manrique, por darme el permiso para ingresar a los ambientes del Instituto de Medicina Legal

A mi asesor, Mg. Aurelio Carrasco Venegas, por su apoyo incondicional, paciencia, orientación y consejos, que han permitido culminar con mi trabajo de investigación tendiente a la obtención del título de Biólogo con especialidad en microbiología.

A mi asesor externo Biólogo Abel Ochoa Del Pino, por el apoyo incondicional, por la orientación, paciencia y consejos que me ayudaron a concluir mi trabajo de investigación

A la Bióloga Ana María Chuchón Henríquez y al Químico- Farmacéutico Raúl Arones Huayta, por sus enseñanzas, por su paciencia y orientación para poder culminar mi tesis.

## ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	v
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. Marco conceptual	4
2.2.1. Mancha seminal	4
2.2.2. Temperatura	4
2.2.3. Tiempo	5
2.2.4. Espermatología forense	5
2.2.5. Antígeno Prostático Específico	5
2.2.6. Células espermáticas	5
2.3. Bases Teóricas	5
2.3.1. Fluido seminal	5
2.3.2. Manchas de fluido seminal en diferentes soportes	6
2.3.3. Aspecto de las manchas según el soporte donde se encuentra	6
2.3.4. Formación del fluido seminal	6
2.3.5. Composición del fluido seminal y su importancia forense	7
2.3.6. Tela de algodón	8
2.3.7. Tipos y calidades de algodón	9
2.3.8. Factores ambientales que afectan al fluido seminal	9
2.3.9. Violencia sexual	9
2.3.10. La violación sexual y que pena judicial tiene	10
2.3.11. Tipos de pruebas para determinación de manchas de fluido seminal	11
2.3.12. Técnicas de identificación microscópica de células espermáticas	12
2.3.13. Homologación de ADN	13
2.4. Marco legal	14
2.4.1. Resolución de la gerencia general N°593-2015-MP-FN-GG. Que aprueba las “Normas para la retención de evidencias biológicas en el laboratorio”	14

2.4.2	Resolución de la Fiscalía de la Nación N° 1430- 2012 – MP-FN aprueba la Guía Médico Legal denominada “Evaluación física de la integridad sexual” elaborado por expertos profesionales del Instituto de Medicina Legal	14
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	15
3.1.	Ubicación	15
3.1.1.	Ubicación geográfica	15
3.1.2.	Ubicación política	15
3.1.3.	Ámbito de estudio	15
3.2.	Tipo de investigación	15
3.3.	Diseño de investigación	15
3.4.	Metodología y recolección de datos	16
3.4.1.	Fase pre – Analítica	16
3.4.2.	Fase Analítica	17
3.4.3.	Fase Post Analítica	18
IV.	RESULTADOS	19
V.	DISCUSIÓN	27
VI.	CONCLUSIONES	31
VII.	RECOMENDACIONES	33
VIII.	REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA	35
	ANEXOS	39

## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
Tabla 1. Efecto de la temperatura de 37°C sobre el PSA a diferentes tiempos, mediante pruebas rápidas, realizado en el Laboratorio de Inmunología. Ayacucho 2019.	23
Tabla 2. Efecto de la temperatura de 25°C sobre el PSA a diferentes tiempos, mediante pruebas rápidas, realizado en el Laboratorio de Inmunología. Ayacucho 2019	24
Tabla 3. Promedios de las células espermáticas a 37°C, realizado en el Instituto de Medicina Legal. Ayacucho 2019	25
Tabla 4. Promedios de las células espermáticas a 25°C, realizado en el Instituto de Medicina Legal. Ayacucho 2019	26

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
Figura 1. Fotografía del trozo de tela de algodón impregnado con fluido seminal	17
Figura 2. Efecto de la temperatura y el tiempo sobre las células espermáticas, realizado en el Instituto de Medicina Legal. Ayacucho 2019	21
Figura 3. Efecto del tiempo sobre las células espermáticas, realizado en el Instituto de Medicina Legal. Ayacucho 2019	22

## ÍNDICE DE ANEXOS

	<b>Pág.</b>
Anexo 1. Curva ajustada del efecto de la temperatura y el tiempo sobre las células espermáticas. Ayacucho 2019	41
Anexo 2. Análisis de varianza con dos factores, en soportes de telas impregnado con fluido seminal, Ayacucho 2019	42
Anexo 3. Comparaciones en parejas usando el método de Tukey a un nivel de confianza del 95% entre el tiempo y la temperatura en soportes de telas impregnados con fluido seminal, Ayacucho 2019	43
Anexo 4. Efecto del factor tiempo usando el método de Tukey a un nivel de confianza del 95% en soportes de telas impregnados con fluido seminal, Ayacucho 2019	44
Anexo 5. Efecto del factor temperatura usando el método de Tukey a un nivel de confianza del 95% en soportes de telas impregnados con fluido seminal, Ayacucho 2019.	45
Anexo 6. Fotografía de la impregnación del fluido seminal sobre los soportes de algodón, realizado en el laboratorio de Inmunología y Microbiología Clínica de la Escuela Profesional de Biología. Ayacucho 2019	46
Anexo 7. Fotografía del rotulado y almacenamiento de las telas secas de algodón impregnadas con fluido seminal en sobres de papel kraft, realizado en el laboratorio de Inmunología y Microbiología Clínica de la Escuela Profesional de Biología. Ayacucho 2019	47
Anexo 8. Fotografía de la recuperación de la muestra de espermatozoides con ayuda de materiales estériles, realizado en el laboratorio de Inmunología y Microbiología Clínica de la Escuela Profesional de Biología. Ayacucho 2019	48
Anexo 9. Fotografía de la reactividad del PSA a 25°C (A) y 37°C (B), usando pruebas rápidas, en el laboratorio de Inmunología y Microbiología Clínica de la Escuela Profesional de Biología. Ayacucho 2019	49



Anexo 10.	Fotografía de la observación microscópica de las células espermáticas a los 4 días incubación a 37°C (A) y 25°C (B), con una cámara marca LEICA en el laboratorio del Instituto de Medicina Legal. Ayacucho 2019	50
Anexo 11.	Fotografía de la observación microscópica de las células espermáticas a los 24 días incubación a 37 °C (A) y 25°C (B), con una cámara marca LEICA en el laboratorio del Instituto de Medicina Legal. Ayacucho 2019	51
Anexo 12.	Fotografía de la observación microscópica de las células espermáticas al inicio del experimento (0 horas) 37 °C (A) y 25°C (B), con una cámara marca LEICA en el laboratorio del departamento de Medicina Legal. Ayacucho 2019	52
Anexo 13.	Espermatograma realizado a los donadores voluntarios (pacientes normozoospermicos) de la muestra de fluido seminal realizado en la clínica privada VIDALAB. Ayacucho 2019	53
Anexo 14.	Constancia de autorización para el ingreso al laboratorio de Biología Forense del Instituto de Medicina Legal de Ayacucho	55
Anexo 15.	Matriz de consistencia	56

## RESUMEN

La presente investigación tiene como objetivo conocer el efecto que tiene el tiempo y la temperatura sobre las células espermáticas y el PSA (Antígeno Prostático Específico) en 48 trozos de tela de algodón de 4 cm<sup>2</sup> impregnados con 100 µL de semen. Teniendo como hipótesis que el tiempo tiene un efecto negativo sobre la conservación del fluido seminal. La investigación se desarrolló en el Laboratorio de Inmunología de la Escuela Profesional de Biología de la Facultad de Ciencias Biológicas y en el Laboratorio de Biología del Instituto de Medicina Legal de Ayacucho, durante los meses de mayo a septiembre de 2019. La investigación fue de tipo aplicada y el diseño cuasi experimental y se ejecutó en tres fases, pre analítica, analítica y post analítica. Las telas fueron incubadas a 37°C y a 25°C durante 24 días y la lectura se hizo cada 4 días, para el caso del efecto del tiempo y temperatura sobre el PSA se usó pruebas rápidas de la marca CTK y para la observación microscópica de células espermáticas se utilizó el colorante cristal violeta. En los resultados se observó realizando la prueba de Tukey a una confianza del 95% que existe significancia respecto al número de células espermáticas, teniendo en la última medida a 37°C una media de 10,6 células espermáticas en 5 campos, a comparación de 25°C con una media de 9,2 células espermáticas en 5 campos y respecto al PSA en todos los casos fueron reactivos, concluyendo que a 37°C las células espermáticas se degradaron más rápido que a 25°C a medida que pasaron los días.

**Palabras clave:** Fluido seminal, mancha seminal, células espermáticas, PSA, factores ambientales.

## I. INTRODUCCIÓN

Este trabajo de investigación busca llenar un vacío en el conocimiento respecto al efecto que tiene el tiempo y la temperatura sobre soportes de telas de algodón impregnados con fluido seminal, este último tiene en su composición elementos como el PSA, las células espermáticas, entre muchos otros que tienen un valor importante en el ámbito forense; se destacan estos dos primeros componentes debido a que en los diferentes gobiernos su presencia se viene tomando como pruebas confirmativas para casos de violación sexual siendo relativamente más sencillas en cuanto a su procedimiento.

El efecto del tiempo y la temperatura pueden ser factores que reduzcan o en el peor de los casos lleven a la desaparición total de alguno o todos los componentes de las manchas de fluido seminal dejadas sobre algún soporte de tela, perdiendo así la evidencia que podría iniciar algún proceso judicial; también es necesario saber que los delitos sexuales en la actualidad se volvieron más frecuentes en toda la sociedad, ya que este delito no discrimina la edad, sexo o estrato social, siendo la mayoría de víctimas mujeres y lastimosamente muchos de estos delitos no son denunciados inmediatamente y es por este motivo que los indicios que deja el agresor van disminuyendo progresivamente hasta tal punto de no encontrar ninguno de estos indicios, ya que teóricamente el tiempo tiene un efecto negativo sobre el fluido seminal.<sup>1</sup>

Para analizar esta problemática es necesario estudiar algunos factores como el tiempo y la temperatura y saber qué efecto tienen sobre algunos componentes del fluido seminal, como son las células espermáticas y el Antígeno Prostático Específico (PSA) sobre soportes de telas que podrían llegar a ser evidencias claras para poder esclarecer hechos en una escena de crimen.

Los peritos forenses con su amplia experiencia conocen el comportamiento que tiene el fluido seminal respecto a algunos factores físicos, químicos o biológicos<sup>2</sup>; sin embargo, es importante conocer y detallar estos comportamientos en el fluido

seminal respecto al tiempo y a la temperatura evaluándolos constantemente en un periodo de 24 días y es por eso que el interés de esta investigación radica en la importancia de conocer el comportamiento de las células espermáticas y el PSA respecto a diferentes tiempos y temperaturas; ya que las evidencias de manchas de fluido seminal sobre soportes de telas en casos de delitos sexuales son remitidas y almacenadas en cadena de custodia a los laboratorios correspondientes.

En esta investigación se usan telas de algodón manchadas con fluido seminal por ser las que más se reportan en el Laboratorio del Instituto de Medicina Legal, las muestras fueron obtenidas de sujetos normozoospermicos; cada trozo de tela fue almacenada en sobres de papel Kraff y estas a su vez guardadas en sobres de manila para ser analizadas.

#### **Objetivo general**

Conocer el efecto del tiempo y la temperatura sobre el Antígeno Prostático Específico (PSA) y las células espermáticas en manchas de telas de interés forense.

#### **Objetivos específicos**

1. Determinar la variación que ejerce el tiempo sobre las células espermáticas y el Antígeno Prostático Específico (PSA) en manchas de telas.
2. Determinar la variación que ejerce la temperatura sobre las células espermáticas y el Antígeno Prostático Específico (PSA) en manchas de telas.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes

Cuiza, en el 2011, en Bolivia, en la investigación titulada. Labor de la sección de biología forense en la investigación de delitos sexuales en el Instituto de Investigaciones Forenses IDIF Sucre, refiere que el trabajo pericial en biología forense inicia desde la valoración médica y toma de muestra de la víctima, la investigación se centra en la búsqueda microscópica utilizando la tinción "árbol de navidad", si el resultado es positivo se guarda las muestras para el análisis de ADN. La determinación del PSA, que es un componente del semen, se realiza con la técnica de ELISA y se ve afectado por el tiempo. Concluyendo que en los delitos sexuales durante todo el procedimiento investigativo se ven influenciados directamente por el tiempo, siendo importante esta variable en la valoración de la víctima y la toma de muestras para su procedimiento en laboratorio.<sup>3</sup>

Quispe, en el 2009 en Bolivia, en la investigación titulada. Pesquisa del fluido seminal en víctimas de violencia sexual por el laboratorio forense, refiere que las muestras de delitos sexuales deben de ser remitidas al laboratorio en el menor tiempo posible y la actuación médico legal debe de ser inmediata. Se analizaron 251 indicios colectados a 215 víctimas y se aplicaron tres métodos para la pesquisa de componentes del semen: Fosfatasa ácida, espermatozoides y PSA. Para la identificación de espermatozoides utilizaron la Coloración *Fast Nuclear Red Solution*, observando así y de manera certera 55 láminas con espermatozoides de manera "abundante", con toda su estructura diferenciada, a pesar de que esta haya sido posiblemente contaminada y conservada durante un tiempo no determinado.<sup>4</sup>

Martínez, en el 2018, en Arequipa, en la investigación titulada. Estudio de la persistencia de espermatozoides en fondo vaginal de mujeres víctimas de violación sexual peritadas en la DML de Arequipa-2015. Trabajó con muestras de hisopados tomados del fondo vaginal a mujeres víctimas de delitos contra la

libertad sexual, tomando en cuenta las horas transcurridas desde el momento de los hechos (6, 12, 24, 36, 48, 72 y 96 horas), donde al inicio de su experimento visualiza un promedio de 39 espermatozoides entre completos e incompletos y en la última medida es decir a las 96 horas, visualiza solo un promedio de 3 espermatozoides entre completos e incompletos. Concluyendo así que los espermatozoides van disminuyendo a medida que pasa el tiempo.<sup>5</sup>

Esquivias, en el 2018, en Arequipa, en la investigación titulada. Estudio de las variaciones morfológicas y tiempo de permanencia de los espermatozoides impregnados en dos tipos de soporte sometidos al efecto de *Escherichia coli*, con fines en la investigación forense. En relación al conteo de espermatozoides completos, al inicio del estudio (tiempo 0 horas) se contó 39 espermatozoides promedio por campo para el soporte de algodón (15,5 %) y 44 espermatozoides promedio por campo para el soporte sintético (16,1 %) y al final del estudio (45 días) se contó 2 espermatozoides promedio por campo (0,7 %) para el soporte de algodón y soporte de sintético.<sup>1</sup>

Tineo, en el 2014, en Lima, en la investigación titulada. Fluidos seminales con pruebas rápidas de Antígeno Prostático Específico (PSA), fosfatasa ácida (FAP) y microscopía, en muestras relacionadas con delitos sexuales. En 43 muestras se detectó la presencia de fluidos seminales ya sea por FAP, PSA o microscopía; 30 muestras resultaron positivas a la prueba de PSA y 34 positivas a FAP esto significa que hubieron pruebas positivas para FAP, pero negativas a PSA y viceversa, en 23 muestras hubo correspondencia entre PSA Y FAP y en solo 17 de ellas se observaron espermatozoides ; en el estudio general se observaron espermatozoides en solo 22 muestras; en 2 muestras que dieron negativo para PSA y FAP se observaron espermatozoides y en 2 muestras con PSA negativo y FAP positivo se observaron espermatozoides.<sup>2</sup>

## **2.2. Marco conceptual**

### **2.2.1. Mancha seminal**

Viene a ser una mancha de fluido seminal que está sobre cualquier soporte sólido y que tiene gran importancia en criminalística, ya que constituye una prueba precisa que está asociada a crímenes de índole sexual y que pueden estar depositados sobre cualquier soporte. El reconocimiento es sencillo en manchas seminales de reciente data, pero se complica al transcurrir el tiempo.<sup>6</sup>

### **2.2.2. Temperatura**

Es un factor abiótico que regula procesos vitales para los organismos vivos, así como también afecta las propiedades químicas y físicas de otros factores

abióticos en un ecosistema. El efecto de la temperatura en el metabolismo, la nutrición y la reproducción de microorganismos, así como el desarrollo de adaptaciones moleculares para sobrevivir en ambientes con temperaturas extremas ha sido ampliamente discutida en la literatura científica.<sup>7</sup>

### **2.2.3. Tiempo**

El tiempo se nos presenta como algo que va “pasando”, un presente se va haciendo pasado y va yendo a un futuro. En su pasar, el tiempo constituye una especie de línea simbólica, “la línea del tiempo”. El concepto descriptivo del tiempo no es sino la descripción del tiempo como línea temporal.<sup>8</sup>

### **2.2.4. Espermatología forense**

Se define como una rama de la Biología Forense, que tiene por objeto de estudio la identificación de los componentes del fluido seminal. Este procedimiento se fundamenta en la aplicación de métodos especializados para el desarrollo de la pericia biológica, aportando con información precisa, para la relación de las evidencias de las víctimas y agresores, en los delitos de violación sexual.<sup>9</sup>

### **2.2.5. Antígeno Prostático Específico**

Es una glicoproteína con un peso de 34 kD, integrado por 237 aminoácidos, cuyo gen está activado en el cromosoma 19 del ADN de las células epiteliales de los ductos prostáticos. El Antígeno Prostático Específico total consta de dos fracciones, libre y compleja, susceptibles de ser cuantificadas en el suero de pacientes afectados por patologías tumorales de próstata, tanto benignas como malignas. Se considera que el nivel del Antígeno Prostático es alto cuando se encuentra por encima de los 4 ng/mL.<sup>10</sup>

### **2.2.6. Células espermáticas**

Los espermatozoides son las células sexuales reproductoras masculinas que se encuentran dentro de los testículos donde son incapaces de fertilizar, sin embargo, esto cambia cuando pasan por el epidídimo donde finalizan su proceso de maduración. Son células haploides por lo cual solo tienen 23 cromosomas, los espermatozoides constan de 3 partes bien estructuradas que son la cabeza, el segmento intermedio o cuerpo y la cola o flagelo.<sup>11</sup>

## **2.3. Bases Teóricas**

### **2.3.1. Fluido seminal**

El fluido seminal o semen es un fluido orgánico que solo lo producen los varones (todos los mamíferos machos lo producen). El fluido seminal sale al exterior con la eyaculación, coincidiendo con el orgasmo. Su función es reproductora. El fluido seminal contiene millones de células reproductoras masculinas

(espermatozoides). En cada una de ellas está incluido el mensaje genético que se transmitirá a los hijos (caso de que se fecunde el óvulo femenino).<sup>12</sup>

El fluido seminal recién emitido es un líquido filante, cremoso, de color opalino, que tiende a amarillo verdoso cuando pasa el tiempo, y de olor típico, tiene filamentos vítreos y granos semejantes a los de tapioca. La opalescencia es proporcional a la concentración de espermatozoides. Coagula inmediatamente después de la eyaculación y luego se licua.

### **2.3.2. Manchas de fluido seminal en diferentes soportes**

Cuando nos encontramos frente a una mancha, esta puede ser visible y como tal, se presenta de forma almidonada. La morfología de las manchas es irregular, con unos contornos bien delimitados. No obstante, puede haber interferencias según el mecanismo de producción, si se debe a una eyaculación se produce una gran zona manchada con aspecto típico, si la mancha se halla depositada en un sector expuesto al roce con objetos extraños perderá su tersura y si además se encuentra contaminada con otros fluidos o secreciones, hecho frecuente en criminalística, se dificulta la observación a simple vista.<sup>13</sup>

La importancia de las manchas de fluido seminal es considerable, porque su presencia en muchos casos tiene significado muy preciso y constituye una prueba acusadora irrefutable ya que entre las huellas que pueden resultar de la comisión de un delito contra la libertad sexual, figuran este tipo de manchas.<sup>14</sup>

### **2.3.3. Aspecto de las manchas según el soporte donde se encuentra**

Sobre la piel, forman débiles películas brillantes, de aspecto barnizado.

Sobre telas absorbentes (ropas de cama, ropa interior, pañuelos, tejidos de algodón en general y papel higiénico), tienen el aspecto conocido como mapa geográfico, siendo irregulares, de color grisáceo, bordes limpios y almidonados al tejido.

Sobre telas no absorbentes (lanas, terciopelo, nylon), formando escamas o películas brillantes, también forman la denominada caminata de caracol.<sup>6</sup>

### **2.3.4. Formación del fluido seminal**

El fluido seminal comienza su formación en los túbulos seminíferos de los testículos (donde se producen los espermatozoides), son retenidos en el epidídimo, donde estos espermatozoides maduran y son conducidos por los conductos deferentes a las vesículas seminales donde el semen adquiere volumen y fructosa (que sirve de fuente de energía y alimento a los espermatozoides), finalmente, tras pasar por la próstata y añadir el líquido



prostático, el semen atraviesa las glándulas de Cowper y Littré que también secretan un líquido lubricante al semen.<sup>15</sup>

### **2.3.5. Composición del fluido seminal y su importancia forense**

El fluido seminal está constituido principalmente por la secreción de las glándulas sexuales anexas y un pequeño porcentaje (2 a 3%) por espermatozoides. El 46 al 80 % del fluido seminal es aportado por las vesículas seminales, un 13 a 33% es secretado por la glándula prostática, aproximadamente el 5% proviene de los testículos y el epidídimo y un 2 a 5 % procede de la secreción de las glándulas uretrales y bulbo uretrales.<sup>16</sup>

En cuanto a la composición química del fluido seminal, contiene mayoritariamente ácido cítrico, aminoácidos libres, fructosa, fibrinógeno, enzimas (fosfatasa ácida, fibrinolisisina, lisozima), fosforilcolina, carnitina, alfa glucosidasa neutra, prostaglandinas, potasio y cinc.<sup>17</sup>

#### **a. Células espermáticas**

El semen en promedio tiene un volumen de 3,5 mL, aproximadamente el 10% de todo este fluido vienen a ser los espermatozoides, el resto del porcentaje viene a ser el plasma seminal. Estas células espermáticas vienen a ser el elemento fundamental en la identificación del fluido seminal. El espermatozoide está compuesto por cabeza, segmento intercalar o intermedio y cola o flagelo.<sup>18</sup>, sin embargo, en muchos casos y por diversos factores ya no se logra observar a los espermatozoides completos (cabeza y cola), sino solamente a los incompletos (solo cabeza) y en el peor de los casos ya no se encuentran en su totalidad.<sup>14</sup> En casos de delitos siempre y cuando la víctima no se haya realizado limpieza o aseo, posterior a la eyaculación, los espermatozoides tienen un tiempo de supervivencia, en función de la región anatómica donde se hayan depositado. Así en el fondo de saco vaginal donde es posible pesquisar espermatozoides de 5 a 7 días posteriores al acto sexual; en el canal endocervical hasta 4 días, en la región rectal hasta 65 horas, en la región anal 46 horas y en la cavidad oral de 6 a 12 horas.<sup>19</sup>

#### **• Anomalías en el fluido seminal respecto a las células espermáticas**

Cuando se habla de anomalías en el fluido seminal principalmente se relaciona a trastornos que sufre el hombre respecto a sus células espermáticas. Hoy en día no conocemos las razones del deterioro del semen en los varones, aunque algunos estudios apuntan hacia la contaminación y los malos hábitos (alcohol, tabaco, estrés, entre otros).<sup>12</sup>

Entre las parejas en edad reproductiva, se considera que del 10 al 15% son infértiles y alrededor de un 50% se puede detectar el factor masculino como causa única o asociada de la infertilidad.<sup>12</sup>

Cuando en una mancha de tela no se observan las células espermáticas que son los indicadores de presencia de fluido seminal, no significa que no ocurrió algún hecho delictivo, ya que hay que tener en cuenta que podemos estar ante sujetos azoospermicos u oligospermicos.<sup>20</sup>

Se estima que en el producto normal de una eyaculación se encuentran alrededor de 60 a 100 millones de espermatozoides por mililitro de semen. Y sus acepciones son la oligozoospermia (menor cantidad de espermatozoides) y azoospermia (ausencia de espermatozoides).<sup>2</sup>

#### **b. Antígeno Prostático Específico (PSA)**

Es una glicoproteína producida por la glándula prostática y es exclusivo del fluido seminal, ha sido bastante caracterizada y validada por la comunidad Científica de Forenses, como un marcador específico de la presencia de fluido seminal. Los niveles de PSA en la sangre en pacientes con cáncer de próstata son en escala millones de veces más baja que en el plasma seminal; en muestras de semen el promedio de PSA es mayor a 820.000 ng/ml.<sup>21</sup>

#### **c. Otros marcadores bioquímicos presentes en el fluido seminal**

Entre los principales componentes químicos del plasma seminal, el cinc secretado por la glándula prostática, se encuentra en concentraciones cientos de veces superior al suero sanguíneo reuniendo las características suficientes para ser utilizado como marcador forense de presencia de fluido seminal.<sup>22</sup>

**La FAP**, es sintetizada por la glándula prostática y secretada en el fluido seminal durante la eyaculación. La actividad de FAP está incrementada en el fluido seminal y su determinación es un recurso aplicable a la búsqueda de semen, adquiriendo importancia como marcador forense en casos de muestras azoospermicas (no contienen espermatozoides en el eyaculado) u oligozoospermicos (concentración espermática menor a 15 millones por mL de semen).<sup>23</sup>

Otro marcador de presencia de fluido seminal, es la determinación de la enzima **LDH** cuya actividad en el semen es superior al valor del suero y además la isoenzima LDH C4 es específica del epitelio seminal.<sup>24</sup>

#### **2.3.6. Tela de algodón**

Las telas de algodón están presentes en casi todo tipo de prendas de vestir y prendas del hogar, por su propiedad de resistencia y absorbencia, adquiere

cierto valor en el ámbito de la criminalística, ya que la mayoría de ensayos forenses se dan sobre este tipo de soporte de tela, aparte de ser la que más se reportan en los laboratorios. La tela de algodón es de origen vegetal, producida por las plantas del género *Gossypium*, que son las plantas conocidas también como las algodonerías o simplemente plantas de algodón, por lo tanto, su composición viene a ser principalmente la celulosa, son absorbentes reteniendo una humedad del 8% a 10% y de secado lento por la resistencia al calor.<sup>25</sup>

### **2.3.7. Tipos y calidades de algodón**

El Perú produce las siguientes variedades de algodón: Tanguis, pima, supima, del cerro y áspero, de las cuales las dos primeras representan el 90% de la producción algodonería nacional.

El algodón pima es el principal algodón que se usa en el Perú, posee las mejores características y pertenece al tipo de algodón de “fibra extra larga”, cuando es procesado correctamente tiene un brillo especial y una suavidad al tacto casi como el algodón puro, a pesar de ser una fibra fina, el algodón pima es también muy resistente a diferencia de los demás algodones, su uso es muy variado es por eso que la mayoría de la ropa de algodón que se utiliza en el Perú viene a ser de este tipo.<sup>26</sup>

### **2.3.8. Factores ambientales que afectan al fluido seminal**

El fluido seminal se ve afectado negativamente por diversos factores ambientales como son la humedad, radiación, temperatura, entre muchos otros. Una gran problemática que sucede, es que las personas agredidas no acuden a la División Médico Legal, por lo tanto, la muestra que puede esclarecer los hechos se ve muy afectada por los ya mencionados factores, causando una relación inversa entre el tiempo y los indicios de violación sexual.

Sobre la permanencia de las células espermáticas, la literatura científica muestra una gran variabilidad de datos sobre el tiempo de supervivencia de estos y otros componentes seminales en cavidades naturales, debido a que están basados en declaraciones de las víctimas, que por sus niveles de trauma o por alegaciones falsas no siempre se ajustan a la realidad.<sup>27</sup>

### **2.3.9. Violencia sexual**

La violencia es una constante en la vida de gran número de personas en todo el mundo y nos afecta a todos de una u otra manera. Para algunas personas permanecer a salvo consiste en cerrar puertas y ventanas y evitar los lugares peligrosos. Para otros simplemente no hay escapatoria, porque la amenaza de la violencia está siempre presente. En esta medida existen sufrimientos colectivos

e individuales, siendo este último el menos visible. El padecimiento individual y cotidiano; el dolor de las mujeres heridas o humilladas por parejas violentas, el dolor de niños maltratados por sus cuidadores y padres, jóvenes intimidados y maltratados por otros jóvenes y miles de personas de todas las clases sociales y edades que actúan violentamente contra sí mismas y contra los otros. Este sufrimiento, se reproduce a sí mismo a medida que las nuevas generaciones aprenden de la violencia de las anteriores, las víctimas aprenden de sus agresores y se permite que perduren las condiciones sociales que favorecen la violencia. En general la violencia sexual es una de las formas más crueles de violencia de género.<sup>28</sup>

Se considera violencia sexual a la imposición de actos de orden sexual por parte de un miembro contra la voluntad de otro. De otra manera se puede decir forzar física o psicológicamente a tener relaciones sexuales o a realizar actos sexuales humillantes o degradantes.<sup>29</sup>

Estos actos también tienen lugar, en contextos de paz, en espacios cotidianos como la escuela, el ámbito laboral y el hogar, incluso en el marco de relaciones familiares, de pareja o de confianza. Diversas formas de violencia sexual están asociadas a la violencia física ejercida por la pareja. Los casos de violencia sexual continúan creciendo en número y gravedad, según reporte de la Policía Nacional del Perú, se han registrado 7 mil 789 denuncias de casos de violencia sexual en el año 2018; lo que significa un aumento del 26,2% con relación al año 2012, además los datos del INEI del 2018 revelan que del 63,2% de las mujeres de 15 a 49 años de edad el 6,8% fueron violentadas sexualmente por su pareja.<sup>30</sup>

### **2.3.10. La violación sexual y que pena judicial tiene**

Las violaciones sexuales adquieren diferentes conceptos en cada país, es así que una violación sexual en el Perú será conceptualizada de diferente manera, por lo tanto, trae consigo diferentes penalidades contra la o el ofendido.

Para el Perú una violación sexual difiere de un abuso sexual, donde el primero involucra necesariamente coito y tiene una sanción; según el **artículo 170 del código penal: Violación sexual**, se suscribe que la pena no será menor de 15 ni mayor de 20 años e inhabilitación según corresponda, sin embargo el **proyecto de Ley 2316/2017 – CR**, propone modificar el **artículo 170 del código penal**, proyecto que eleva la pena y precisa el delito de violación sexual del agente con vinculación académica con la víctima.<sup>31</sup>

### **2.3.11. Tipos de pruebas para determinación de manchas de fluido seminal**

#### **a. Orientativas**

Las pruebas de orientación tienen mayor utilidad cuando se trata de localizar el vestigio entre las ropas de la víctima, en superficies grandes tales como sábanas, mantas o entre manchas dubitadas recogidas del lugar de los hechos. El papel de una prueba de orientación recae más en su habilidad para descartar la presencia de semen en una mancha cuestionada que en la de indicar la presencia de semen. Es necesario un examen visual exhaustivo y minucioso de las distintas prendas. Las técnicas más utilizadas en el campo forense son<sup>6</sup>:

- **Luz ultravioleta**

Bajo la acción de radiaciones ultravioletas, las manchas de fluido seminal presentan una fluorescencia directa, pero no es específica, pues existen otros materiales que producen similar efecto, constituye un recurso útil para localizar manchas sospechosas.<sup>6</sup>

- **Fosfatasa ácida**

Es una enzima fosfomonoesterasa no específica, se encuentra en niveles altos en el semen, proviene de las células epiteliales de la glándula prostática. El nivel de la actividad de la fosfatasa ácida es 500 a 1000 veces más alta en el semen humano que en otros fluidos o secreciones corporales. La detección de la fuerte actividad de la fosfatasa ácida es considerada como un rápido y confiable indicador de la presencia de semen.<sup>6</sup>

La fosfatasa ácida reacciona con el alfa naftil fosfato, liberando naftol y dando una coloración vino tinto; también puede darnos resultados falsos positivos cuando se presentan reacciones positivas sin la presencia de la fosfatasa ácida, esta reacción se da cuando se encuentran presentes en los indicios contaminantes bacterianas como *E. coli*, *Proteus* y levaduras.<sup>32</sup>

#### **b. Confirmativas**

Estas pruebas confirmatorias pueden ser: electroforéticas, enzimáticas, inmunocromatográficas y microscópicas, sin embargo; las que más se usan son la prueba del PSA, que fue validada en la comunidad forense como prueba confirmatoria y la microscopía de espermatozoides, que en la mayoría de laboratorios del Perú viene a ser la prueba *Gold standar* para la confirmación de presencia de fluido seminal en algún hecho delictivo y el ADN, que sirve para la homologación del culpable si fuera el caso.

- **Determinación del PSA mediante pruebas rápidas**

El PSA tiene su origen en el epitelio que recubre la glándula prostática, pero ahora se sabe que se encuentra también presente en orina femenina, leche materna, líquido amniótico en cantidades casi indetectables.<sup>32</sup>

Este es un ensayo para determinar el PSA, el cassette tiene en su estructura anticuerpos anti PSA en la zona de la línea de prueba. Durante la prueba, la muestra del fluido seminal reacciona con la partícula recubierta con anticuerpo anti-PSA. La mezcla migra hacia arriba de la membrana por acción capilar, para reaccionar con anticuerpos anti-PSA generando una línea de color.

Tiene una línea de prueba (T) una línea de referencia (R), aparte de tener un control (C), por ende, cuando se hace la prueba se forman 3 líneas, la del control, la de referencia y la de la muestra que contiene en este caso fluido seminal; los colores de las líneas que se muestran en el casete si resultan positivas son de color morado.

- **Observación microscópica de células espermáticas**

Esta es una prueba que permite observar e identificar a las células espermáticas directamente, donde es necesario hacer uso del microscopio, previo haber realizado un extracto del indicio a investigar, del cual se realiza un frotis en una lámina de vidrio (portaobjetos), el cual es coloreado con diferentes métodos de coloración. Principalmente en la búsqueda microscópica de espermatozoides en muestras de hisopados (secreción vaginal anal, bucal), prendas, etc.; el método de elección es la tinción “árbol de navidad”, aunque existen otros métodos o técnicas de coloración igual de importantes y eficaces que se detallan a continuación.<sup>32</sup>

### **2.3.12. Técnicas de identificación microscópica de células espermáticas**

#### **a. Cristal violeta**

Colorante utilizado en diferentes microorganismos, debido a su fácil uso y adquisición.

El colorante cristal violeta es uno de los colorantes que está presente en la tinción Gram, respecto a las células espermáticas actúa tiñendo su citoplasma, no se distingue las estructuras del espermatozoides (cabeza y cola) ya que es un colorante sencillo, las células espermáticas que fueron fijadas en la láminas portaobjetos son coloreadas mediante el colorante cristal- violeta en toda la lámina, esto por un tiempo de un minuto, luego son observadas con el aumento 100x con una gota de aceite de inmersión.<sup>33</sup>

#### **b. Tinción de Árbol de Navidad**

Lleva su nombre por los diferentes colores que adquieren las células espermáticas ya que se tiñen de rojo y verde.

La tinción del sedimento que contiene células espermáticas sobre una lámina portaobjetos se realiza con una técnica especial, aplicando los colorantes Rojo Rápido Nuclear, luego se aplica el pícrico índigo carmín y se observa al microscopio con el objetivo de inmersión. El núcleo se colorea de color rojo, y el acrosoma de color verde.<sup>33</sup>

#### **c. Método hematoxilina-eosina**

Método conocido y descrito para tinciones citológicas, su valor de diagnóstico de espermatozoides se da dentro de las primeras 12 horas.<sup>33</sup>

Como su nombre lo dice, esta coloración utiliza la hematoxilina que tiene un carácter básico, por ello este colorante tiñe estructuras ácidas como el núcleo del espermatozoide de un color azul oscuro o púrpura y la eosina que tiene un carácter ácido tiene afinidad por el citoplasma de las células, tiñéndolas de color rosado.

#### **d. Método de Papanicolaou**

Método recomendado por la OMS para la tinción de espermatozoides, sin embargo, se demostró que solo el 25% de los frotis de las mujeres voluntarias que habían tenido relaciones sexuales en las últimas 24 horas presentaban espermatozoides con esta tinción, lo que excluye el uso rutinario de esta técnica.<sup>33</sup>

Este método utiliza 3 colorantes los cuales son la hematoxilina que tiñe exclusivamente el núcleo, luego tiene el Orange G y la eosina que tiñen el citoplasma, además para terminar con la coloración se utiliza como solución aclaradora al Xilol, al final puede observarse el núcleo del espermatozoide de un color rosado.

### **2.3.13. Homologación de ADN**

El altísimo poder de identificación e individualización humana del ADN nuclear ha sido documentado en múltiples estudios, su aplicación es rutinaria en las áreas de la criminalística y la ciencia forense, en suma, se ha convertido en una prueba pericial de carácter crucial en el proceso penal.<sup>34</sup>

La presencia de las células espermáticas a través del tiempo, llamada persistencia, ayuda a esclarecer y permite calcular de manera retrospectiva el tiempo transcurrido desde su eyaculación, lo cual podría ayudar a descartar

individuos involucrados en delitos contra la libertad sexual. Para ello se analizan muestras para poder determinar la presencia o no de células espermáticas, los cuáles van a ser una prueba irrefutable y fundamental en los delitos contra la libertad sexual y van a servir para una posterior homologación de ADN puesto que está demostrado que basta una cabeza del espermatozoide reportado para determinar el perfil genético del supuesto agresor o sospechoso.<sup>5</sup>

## **2.4. Marco legal**

**2.4.1. Resolución de la gerencia general N°593-2015-MP-FN-GG. Que aprueba las “Normas para la retención de evidencias biológicas en el laboratorio”** señala:

Que el Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses, brinda información a través de los estudios que se realizan a las muestras de tejidos, fluidos corporales y otros especímenes biológicos que son procesados a través de su unidad forense, quienes además brindan opinión técnica- científica sobre temas de debate, conforme lo establece el reglamento de Organización y Funciones del Ministerio Público.

Que, por lo expuesto, resulta de vital importancia establecer los procedimientos aplicables al manejo de materiales biológicos que permitan uniformizar el proceso de retención de evidencia y de los tiempos que permanecen en custodia, según estándares internacionales forenses.<sup>35</sup>

**2.4.2. Resolución de la Fiscalía de la Nación N° 1430- 2012 – MP-FN aprueba la Guía Médico Legal denominada “Evaluación física de la integridad sexual” elaborado por expertos profesionales del Instituto de Medicina Legal,** señala:

Esta guía es una herramienta técnica, científica y académica, está orientada a los médicos legistas y personal de salud del Instituto de Medicina Legal y complementariamente, a los médicos y profesionales de la salud de otras instituciones, públicas o privadas del ámbito nacional, que pueden ser designados por los administradores de justicia.<sup>36</sup>



### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Ubicación**

##### **3.1.1. Ubicación geográfica**

La ciudad de Huamanga se encuentra a 2 746 msnm. Está situada en la vertiente oriental de la Cordillera de los Andes. Las coordenadas de su centro geográfico son: 13° 09' 26" de latitud sur y 74° 13' 22" del meridiano de Greenwich.

##### **3.1.2. Ubicación política**

La provincia de Huamanga es una de las once que conforman el departamento de Ayacucho. Limita al Norte con la provincia de Huanta, al Este con la provincia de La Mar y el departamento de Apurímac, al Sur con la provincia de Wilcashuamán y la provincia de Cangallo y al Oeste con el departamento de Huancavelica.

##### **3.1.3. Ámbito de estudio**

El presente trabajo de investigación se ejecutó en el Laboratorio de Inmunología de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga y en el Laboratorio de Biología del Instituto de Medicina Legal de Ayacucho.

#### **3.2. Tipo de investigación**

##### **Aplicado**

Esta investigación servirá como un precedente para poder resolver problemas que se observan en la sociedad en temas de delitos sexuales.<sup>37</sup>

#### **3.3. Diseño de investigación**

##### **Cuasi-experimental**

Las telas ya estaban asignadas por grupo para cada temperatura la de 37°C y la de 25°C, por lo tanto, los grupos estaban intactos antes de realizar cualquier tipo de experimento.<sup>37</sup>

### **3.4. Metodología y recolección de datos**

Para el desarrollo de la investigación se dividieron las actividades en tres fases: **Fase Pre analítica**, donde se realizó la preparación de las telas de algodón con sus medidas correspondientes, obtención de la muestra de fluido seminal a partir de donadores voluntarios, la impregnación del fluido seminal sobre las telas y el almacenamiento de las mismas a temperaturas de 37°C y 25°C durante 24 días por ser el stock de pruebas rápidas de PSA que se pudieron obtener en esta investigación ; **fase analítica**, se procedió a recuperar las muestras cada 4 días, para el caso del PSA, mediante la inmunocromatografía; y para la identificación de células espermáticas mediante el colorante cristal violeta; **fase post analítica**, se realizó el análisis estadístico.

#### **3.4.1. Fase pre - analítica**

##### **a) Unidad experimental**

Estuvo conformado por 48 trozos de tela de algodón (color crema, grosor 30/1 y longitud de malla de 0,19 cm) de 4 cm<sup>2</sup> impregnados con fluido seminal.

##### **Recolección**

##### **Preparación de las telas de algodón**

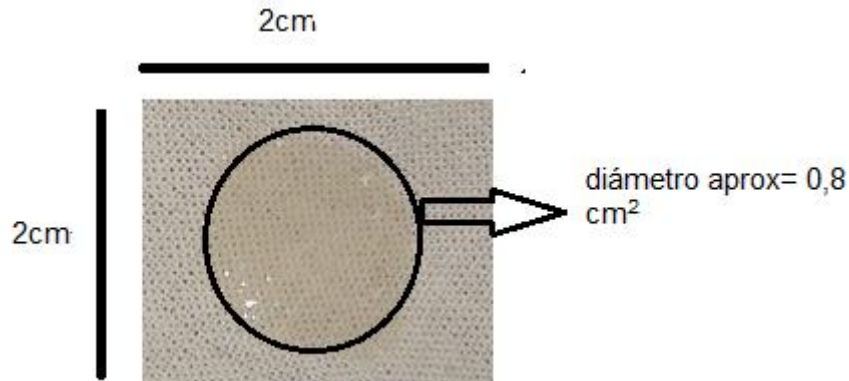
- Se compró 1 metro de tela de algodón de color crema, grosor de 30/1 y una longitud de malla de 0,19 cm, por ser la que se reporta más frecuente en el Instituto de Medicina Legal de Ayacucho.
- La tela fue recortada en 48 trozos de 4 cm<sup>2</sup>.
- Los trozos de telas fueron guardados en tapers de plástico con tapa.

##### **Obtención de la muestra de fluido seminal**

- Se seleccionó a 2 donadores voluntarios de la muestra de fluido seminal, estos debieron de gozar de un buen estado físico y estar aparentemente sanos, por lo que ya no se realizó el tamizaje de peso y talla, además de tener un recuento de espermatozoides con valores normales (normozoospermicos) que se realizó en una clínica particular. **(ver anexo 13)**
- Las muestras de fluido seminal se obtuvieron mediante la masturbación realizada por cada voluntario en un ambiente privado y sin ayuda de algún estimulante químico, en frascos estériles con boca ancha y fueron transportadas al Laboratorio de Inmunología, el volumen de fluido seminal obtenido fue similar al volumen obtenido en el espermatograma (3,4 mL). Previa coordinación se informó a los donadores no realizar alguna actividad sexual al menos 3 días antes de la donación.

### Impregnación del fluido seminal en la tela

- A partir de la obtención de las muestras de fluido seminal, en el Laboratorio de Inmunología, se procedió a impregnar 100  $\mu\text{L}$  de la muestra con una micropipeta de marca Kacil autoajustable al centro de los trozos de tela, formándose una mancha en el centro de un diámetro aproximado de 0,8  $\text{cm}^2$ .<sup>1</sup>



**Figura 1.** Fotografía del trozo de tela de algodón impregnado con fluido seminal con las medidas correspondientes. Ayacucho 2019.

Fuente: Elaboración propia

### Almacenamiento

- Todos los trozos de algodón fueron secados completamente a temperatura ambiente sin ayuda de una secadora o ventiladora durante 1 hora y media.<sup>1</sup>
- Una vez seco el fluido seminal sobre el soporte de tela de algodón, fueron guardadas individualmente en sobres de papel Kraff de 9  $\text{cm}^2$ , teniendo cuidado de no doblarlas, enrollarlas o someterlas a fricción, especialmente la parte manchada, estas a su vez fueron depositadas en sobres de manila tamaño A 4, debidamente rotuladas.<sup>1</sup>
- Las telas contenidas en los sobres de manila fueron incubadas a diferentes temperaturas (25°C) en una incubadora marca JSR modelo JSGI-00T y a temperatura corporal (37°C) en una incubadora marca THELCO durante diferentes tiempos que fueron: 4, 8, 12, 16, 20 y 24 días.

#### 3.4.2. Fase analítica

- Recuperación de la muestra de fluido seminal.** Se recortó 0,5  $\text{cm}^2$  del centro de la tela impregnada con fluido seminal con ayuda de un disco de esa medida y estos fragmentos de telas fueron sumergidas durante 30 minutos en 2 mL solución salina fisiológica dentro de un tubo de ensayo realizando movimientos de rotación cada 10 minutos con la ayuda de un hisopo estéril, pasado los 30 minutos se retiraron los fragmentos de tela con la ayuda de hisopos estériles, estrujándolos por las paredes del tubo de

ensayo, además se retiró cualquier retazo de la tela que haya quedado en el tubo de ensayo.<sup>2</sup>

**b) Determinación del Antígeno Específico de Próstata (PSA) mediante pruebas rápidas**

Una vez obtenido el tubo de ensayo con la muestra recuperada se centrifugó a 3500 rpm durante 5 minutos con una centrífuga marca BOECO modelo HC-240, obteniendo el sedimento y el sobrenadante visiblemente separadas, luego con la ayuda de la micropipeta marca Kacil autoajustable se absorbió 80  $\mu$ L del sobrenadante y se depositó en el posillo del Kit de prueba rápida de PSA marca CTK americano, se observó si este es reactivo o no por la formación de una línea de color morada, aparte de las líneas de control y de la referencia.<sup>2</sup>

**c) Conteo de células espermáticas mediante el colorante cristal violeta**

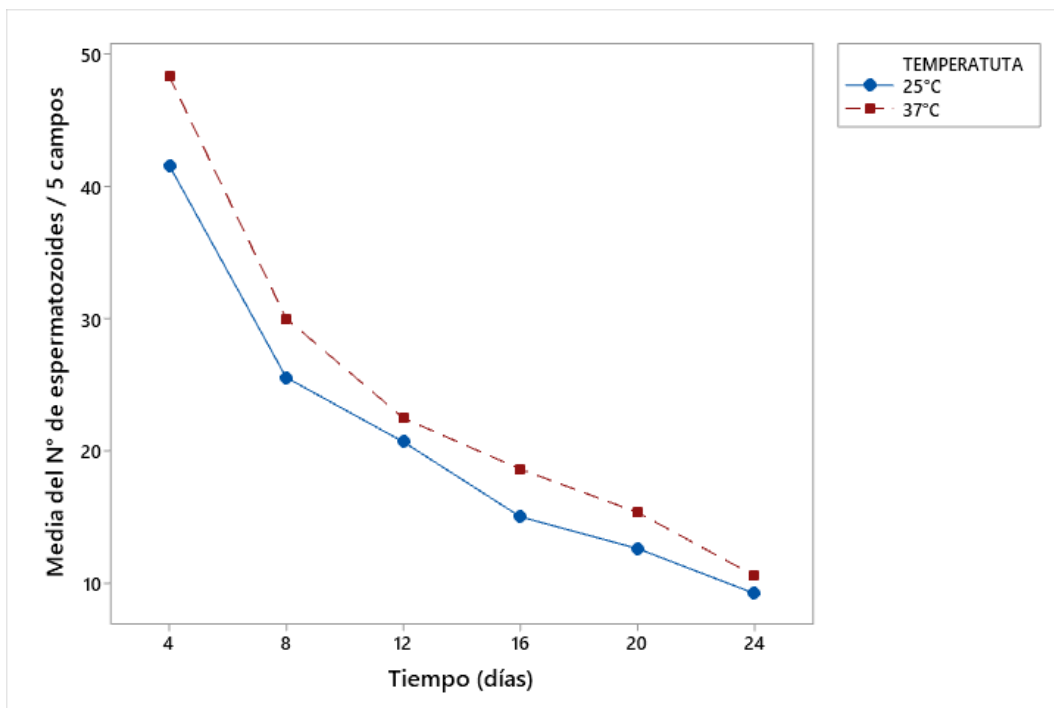
A partir del tubo de ensayo donde estaba sumergido el trozo de tela con fluido seminal y que se usó para la determinación del Antígeno Prostático Específico (PSA), se desechó el sobrenadante y se realizó una extensión sobre una lámina con el sedimento, se dejó reposar hasta ver que el sedimento esté totalmente seco, posteriormente las láminas fueron coloreadas con cristal violeta por un minuto y luego se observó en el microscopio adecuado con una cámara digital marca LEICA con objetivo de inmersión (100x). Se hizo el recuento de células espermáticas en 5 campos al azar.<sup>1</sup>

**3.4.3. Fase post analítica**

**Análisis estadístico**

Se aplicó el Análisis de varianza para dos factores y la prueba de Tukey (por ser la que más se adecua a un emparejamiento de datos) a un 95% de confianza, además los datos cumplían con distribución normal.

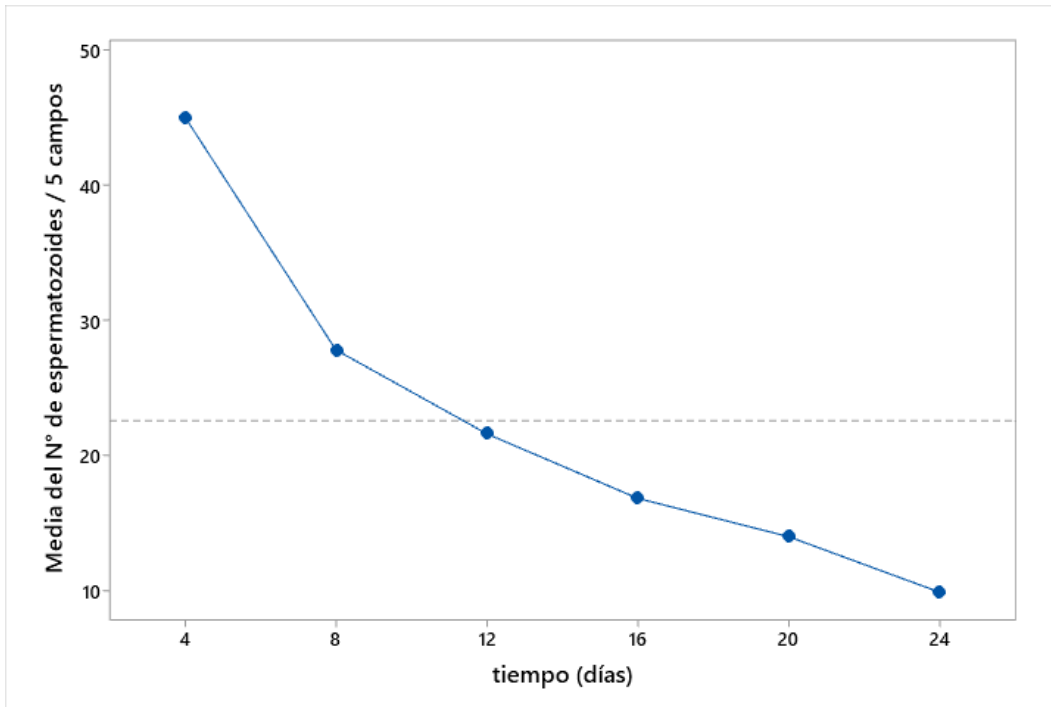
#### **IV. RESULTADOS**



**ANVA (tiempo \* temperatura): Valor F = 3,68. GL = 5. P valor= 0,013**

La curva de color roja representa la T° de 37°C, que va disminuyendo progresivamente en función al tiempo, como se observa la media de las células espermáticas de esta viene a ser mayor que la curva azul que representa la T° 25°C que tiene una media de células espermáticas menor.

**Figura 2.** Efecto de la temperatura y el tiempo sobre las células espermáticas, realizado en el Instituto de Medicina Legal. Ayacucho 2019.



**ANVA (tiempo): Valor F = 601.63. GL = 5. P valor= 0,000**

En esta figura se observa como el tiempo afecta de manera negativa y directamente a las células espermáticas en su conservación total, observando que hay un descenso más progresivo.

**Figura 3.** Efecto del tiempo sobre las células espermáticas, realizado en el Instituto de Medicina Legal. Ayacucho 2019.

**Tabla 1.** Efecto de la temperatura de 37°C sobre el PSA a diferentes tiempos, mediante pruebas rápidas, realizado en el Laboratorio de Inmunología. Ayacucho 2019.

Reactividad del PSA a 37°C				
Tiempo (días)	Control negativo	Repeticiones		
		R 1	R 2	R 3
4	-	+	+	+
8	-	+	+	+
12	-	+	+	+
16	-	+	+	+
20	-	+	+	+
24	-	+	+	+

**Leyenda**

R1. Repetición 1

R2. Repetición 2

R3. Repetición 3

En la tabla se observa el efecto de la temperatura de 37°C sobre el PSA, en diferentes tiempos resultando en todos los casos reactivos mediante pruebas rápidas para PSA con excepciones de los controles negativos.



**Tabla 2.** Efecto de la temperatura de 25°C sobre el PSA a diferentes tiempos, mediante pruebas rápidas, realizado en el Laboratorio de Inmunología. Ayacucho 2019.

Reactividad del PSA a 25°C				
Tiempo (días)	Control negativo	Repeticiones		
		R 1	R 2	R 3
4	-	+	+	+
8	-	+	+	+
12	-	+	+	+
16	-	+	+	+
20	-	+	+	+
24	-	+	+	+

**Leyenda**

R1. Repetición 1

R2 repetición 2

R3. Repetición 3

En la tabla se observa el efecto de la temperatura de 25°C sobre el PSA, en diferentes tiempos resultando en todos los casos reactivos mediante pruebas rápidas para PSA, con excepciones de los controles negativos.

**Tabla 3.** Promedios de las células espermáticas a 37°C, realizado en el Instituto de Medicina Legal. Ayacucho 2019.

<b>Promedios de las células espermáticas en 5 campos a 37°C</b>					
<b>Tiempo (días)</b>	<b>Control negativo</b>	<b>Repeticiones</b>			<b>Promedio</b>
		<b>Rep1</b>	<b>Rep2</b>	<b>Rep 3</b>	
4	0	46,8	47,4	51	48,4
8	0	29,4	29,8	31	30,1
12	0	22,8	21,8	23	22,5
16	0	18,4	18,8	18,8	18,7
20	0	14,2	17	15	15,4
24	8	9,6	11,8	10,4	10,6

**Tabla 4.** Promedios de las células espermáticas a 25°C, realizado en el Instituto de Medicina Legal. Ayacucho 2019.

<b>Promedios de las células espermáticas en 5 campos a 25°C</b>					
<b>Tiempo (días)</b>	<b>Control negativo</b>	<b>Repeticiones</b>			<b>Promedio</b>
		<b>Rep1</b>	<b>Rep2</b>	<b>Rep 3</b>	
4	0	41,2	42,4	41,4	41,6
8	0	28,2	24	24,6	25,6
12	0	21,2	21,4	19,6	20,7
16	0	14,9	15,3	15,1	15,1
20	0	13,4	13,8	10,8	12,7
24	8	9,2	9,8	8,8	9,2

## V. DISCUSIÓN

En la figura 2, se observa el efecto que tiene el tiempo y la temperatura sobre las células espermáticas durante 24 días, podemos afirmar que existe un efecto del tiempo y la temperatura que influye negativamente en la conservación de las células espermáticas. El valor P es  $0,013 < 0,05$  rechazando la hipótesis nula (ver anexo 2), el número de células espermáticas en promedio para la temperatura  $37^{\circ}\text{C}$  viene a ser de 10,6 células espermáticas en 5 campos y para la temperatura de  $25^{\circ}\text{C}$  el promedio es de 9,2 células espermáticas en 5 campos; para el caso del Antígeno Prostático Específico, no hubo ninguna interferencia del efecto del tiempo y temperatura ya que para todos los casos y para todas las temperaturas fueron reactivas. Cuiza (2011), también coincide con la afirmación de que el tiempo influye directamente sobre la determinación del número de células espermáticas, sin embargo, diferimos en su investigación cuando menciona que el PSA se ve alterado también por el tiempo, ya que en esta investigación el PSA no se vió afectado por cualquiera de los dos factores ambientales ya sea tiempo o temperatura.<sup>3</sup>

En la figura 3, se observa la acción del tiempo sobre las células espermáticas, donde el promedio de la primera lectura (4 días) fue de 45,0 células espermáticas en 5 campos y el promedio final (24 días) fue de 9,3 células espermáticas en 5 campos, viéndose un descenso progresivo sobre el número de células espermáticas a medida que pasaron los días. Esquivias (2018) menciona que a medida que los días pasan los espermatozoides van disminuyendo, teniendo para el comienzo del experimento (0 horas), un promedio de 39 espermatozoides completos y a los 45 días solo observa un promedio de 2 espermatozoides completos a una temperatura ambiente sometidos al efecto de la bacteria *E. coli*, lo que concuerda con el trabajo al decir que el tiempo tiene un efecto negativo en la recuperación de espermatozoides.<sup>1</sup> Por otra parte, en esta investigación no se pudieron conseguir muestras de

hechos de violación sexual propiamente dicho ya que estas muestras permanecen en estricto carácter confidencial, se simularon muestras en donde podría quedar evidencias de algún hecho sexual, para este caso se utilizaron telas de algodón por ser la que más se reportan en el Instituto de Medicina Legal de Ayacucho, Gómez (2009) menciona que existe una relación inversamente proporcional a la entrega de evidencia con el delito de violación sexual, ya que las muestras tanto de hisopados y de prendas interiores remitidas demoran en llegar debido a la formalización de la denuncia.<sup>38</sup>

También Martínez (2018), toma hisopados vaginales en casos confirmados donde hace el conteo de los espermatozoides en la cavidad vaginal desde las 6 horas de haber tomado la muestra, reportando que a partir de este punto los espermatozoides van disminuyendo más drásticamente, lo que concuerda con esta investigación, sin embargo en la cavidad vaginal las células espermáticas están sometidas no solo al factor tiempo, sino que se ve perjudicado por factores biológicos, sin embargo concuerda con esta investigación ya que menciona claramente que a los 4 días (96 horas), las células espermáticas empiezan a tornarse incompletas, es decir que muchas células espermáticas van perdiendo sus estructuras, coincidiendo con los resultados de esta investigación, donde a partir de los 4 días se empezaron a ver muchas células espermáticas incompletas.

En la tabla 1, efecto de la temperatura de 37°C sobre el PSA a diferentes tiempos, mediante pruebas rápidas, y en la tabla 2, efecto de la temperatura de 25°C sobre el PSA a diferentes tiempos, mediante pruebas rápidas, se ve una reactividad para todos los casos (100 % de reactividad) con la excepción del control negativo, gracias a esto podemos indicar que el PSA se comporta como una glicoproteína estable. Tineo (2014) en su investigación utiliza pruebas rápidas de PSA de la marca SERATEC de uso forense donde procesa 43 muestras de las cuales solo 30 resultaron positivas (82,6 %), cabe resaltar que este investigador no precisa de factores ambientales o físicos que afecten a sus muestras, en la actualidad el costo de esta prueba con dicha marca no es empleada para un presunto delito sexual, ya que el costo es muy alto para la demanda de delitos que se reportan, en esta investigación mediante pruebas piloto, se demostró que si se puede realizar esta prueba con kits de pruebas rápidas de PSA de marcas comerciales mucho más económicas, de esta manera se puede adecuar marcas comerciales de PSA de la mano de la prueba de certeza para los espermatozoides. Este test viene a ser una prueba confirmatoria

para probar que, si existió delitos sexuales, ya que es una proteína que se segrega exclusivamente en la próstata y en el semen se encuentra en grandes. De esta manera esta prueba viene a trabajar de la mano con la observación microscópica de espermatozoides (prueba de certeza), ya que Savino, J y Turvey (2005) señalan que el 34% de los violadores sufren alguna anomalía en el fluido seminal pudiendo ser Azoospermicos o vasectomizados y el 40% utilizan preservativos, por lo tanto, el hisopado para la observación de espermatozoides podría reportarse como negativo, sin embargo, si existe reactividad del PSA podemos afirmar que, si hubo un delito sexual, por eso es que requieren de otras pruebas como el nombrado test de PSA.<sup>39</sup>

En la tabla 3, Promedios de las células espermáticas a 37°C, realizado en el Instituto de Medicina Legal. Ayacucho 2019 y en la tabla 4, Promedios de las células espermáticas a 25°C, realizado en el Instituto de Medicina Legal. Ayacucho 2019. Se observa que a partir de las lecturas que fueron cada 4 días durante 24 días los promedios fueron disminuyendo y desde la primera lectura (4 días) muchos de los espermatozoides se empezaron a observar incompletos al ser coloreados con el colorante cristal violeta y en algunos casos las cabezas de los espermatozoides podrían haber sido confundido con alguna otra partícula parecida si no se tuviera eficacia en reconocer los espermatozoides con esta tinción, Quispe (2009) menciona que mediante la Coloración "*Fast Nuclear Red Solution*", los espermatozoides se encuentran de manera certera y completa a pesar del tiempo que estuvieron en cadena de custodia, con diferenciación de sus estructuras, además de encontrarse abundantemente en cada una de las 55 láminas que fueron observadas<sup>4</sup>, lo que difiere de los resultados de esta investigación, ya que mencionamos que las células espermáticas empezaron a disminuir desde las primeras lecturas hasta llegar al punto donde se vieron muy escasas aparte de perder su estructura , actualmente la mayoría de las divisiones médico legales del país, vienen utilizando la coloración cristal violeta, pero se sabe que de no tener la destreza para el reconocimiento de los espermatozoides podrían dar resultados falsos negativos.

## VI. CONCLUSIONES

1. A medida que transcurrieron los días las células espermáticas se vieron afectadas por el factor tiempo y temperatura, ya que se evidenció una disminución progresiva con tendencia a la baja. Para el caso del PSA, no se vio afectado por el factor tiempo y temperatura, ya que se comportan establemente desde el primer día de medición (4 días) hasta la última medición (24 días).
2. El tiempo ejerce una variación respecto a las células espermáticas, ya que a medida que pasaron los días la diferencia entre los promedios que se realizaron cada 4 días fue cada vez menor. Para el caso del PSA mediante pruebas rápidas para ambas temperaturas y tiempos siguió comportándose de manera estable dando reactivo a todas las repeticiones.
3. La temperatura ejerce una variación sobre las células espermáticas, evidenciando mediante una curva ajustada que a 37°C las células espermáticas se degradaron más rápido que a 25°C a medida que pasaron los días.

## **VII. RECOMENDACIONES**

1. A los futuros tesisistas e investigadores, realizar investigaciones similares a este trabajo incrementando el número de días y variando las temperaturas además de incluir más factores físicos, químicos o biológicos, también usar más pruebas para la detección del fluido seminal.
2. A la Facultad de Ciencias Biológicas, realizar más convenios con el Ministerio Público e instituciones afines, para poder realizar prácticas pre-profesionales y facilitar a los tesisistas la adquisición de muestras reales y el uso de equipos con el fin de hacer más investigaciones en el ámbito forense.
3. A la Escuela Profesional de Biología, actualizar e incluir en sus prácticas el uso de pruebas rápidas para la determinación del PSA y la adquisición de insumos requeridos como colorantes específicos para realizar algunas prácticas, también gestionar que algunas prácticas se puedan realizar dentro de las instituciones Médico Legales o instituciones afines.



## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

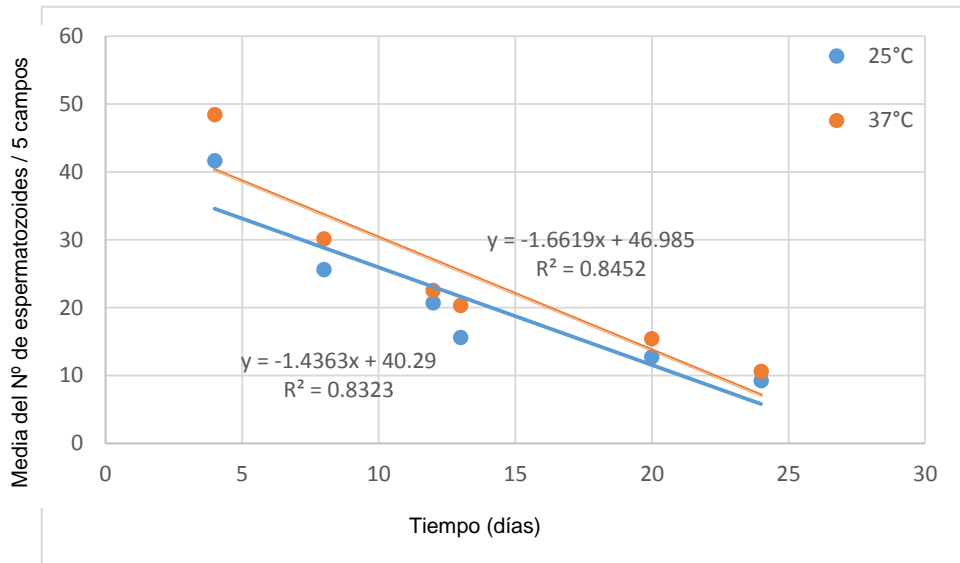
1. Esquivias Ramírez W. Estudio de las variaciones morfológicas y tiempo de permanencia de los espermatozoides impregnados en dos tipos de soporte sometidos al efecto de *Escherichia coli*, con fines en la investigación forense [tesis de postgrado]. Arequipa. Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa; 2018.
2. Tineo D, Vargas J, Rosas C. Investigación de fluidos seminales con pruebas rápidas de antígeno prostático específico (PSA), fosfatasa ácida (FAP) y microscopía, en muestras relacionadas con delitos sexuales. Instituto de Medicina Legal del Perú. 2014; 20 (1). [acceso 31 de mayo del 2018]. Disponible en: <https://docplayer.es/95281762-Instituto-de-medicina-legal-del-peru.html>
3. Cuiza C. Labor de la sección de biología forense en la investigación de delitos sexuales en el Instituto de Investigaciones Forenses IDIF. Archivos bolivianos de medicina. 2011; 16(84). [acceso 30 de octubre de 2019]. Disponible en: <http://www.revistasbolivianas.org.bo/pdf/abm/v16n84/v16n84a03.pdf>
4. Quispe S. Pesquisa del fluido seminal en víctimas de violencia sexual por el laboratorio forense. Revista médica La Paz. 2016; 15(1). [acceso 31 de mayo del 2018]. Disponible en: [http://www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S172689582009000100002&script=sci\\_abstract](http://www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S172689582009000100002&script=sci_abstract).
5. Martínez Solís G. Estudio de la persistencia de espermatozoides en fondo vaginal de mujeres víctimas de violación sexual peritadas en la DML De Arequipa - 2015 [tesis de postgrado]. Arequipa. Universidad Nacional San Agustín de Arequipa; 2018
6. Támara KL. Reconocimiento e identificación de manchas de semen en diferentes soportes de interés forense. Lima: Guzlop Editoras; 2013. 34 p. [acceso 18 de agosto de 2018]. Disponible en: [https://guzlop-editoras.com/web\\_des/bio01/bioforense/pld0638.pdf](https://guzlop-editoras.com/web_des/bio01/bioforense/pld0638.pdf).
7. López W. Desarrollo de un sistema escala para la medición de temperatura con sistemas embebidos para el laboratorio de mecatrónica de la facultad de mecánica [tesis de pregrado]. Riobamba. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2011.
8. McTaggart JM. The Nature of Existence. London: Kindle Edition; 1927. 298 p.
9. Colegio de Abogados de Lambayeque. Ciencias forenses y criminalística de laboratorio - Espermatología forense. Lambayeque; 2015.
10. Wein A. Campbell-Walsh Urología: 10ma ed. Buenos Aires: Panamericana; 2010.
11. Toro A. El espermatograma, medicina y laboratorio. Medicina & Laboratorio. 2009; 15 (3).
12. Pezantes Nidia. Alteraciones patológicas del líquido seminal. [monografía en internet]. Cuenca. Universidad Católica de Cuenca; 2010.[acceso 18 de septiembre de 2019] Disponible en: <http://dSPACE.ucacue.edu.ec/bitstream/reducacue/5373/4/Alteraciones%20patol%C3%B3gicas%20en%20el%20l%C3%ADquido%20seminal.pdf>
13. Zjaczkowski R. Manual de criminalística. Buenos Aires: Dosyuna Ediciones Argentinas; 1998.
14. Gisbert Calabuig JA. Medicina Legal y toxicología: quincuagésima 3ra ed. España: Masson; 1998.

15. Vite VJA, Ortiz NDA, Hernández MI, Tovar RJM. Análisis epidemiológico de la infertilidad en una población mexicana. *Ginecología y Obstetricia de Mexico*. 2005; 73: 360-364.
16. López-García MJ., Urbano-Felice A, y Cárdenas-Povedano M. *Manual de Laboratorio para análisis del semen*. Argentina: OmniaScience; 2012. 129 p.
17. Carma I. *Métodos de Reconocimiento. Identificación e Individualización de manchas de semen*. España. 2011
18. World Health Organization. *Laboratory manual for the examination and processing of human sperm: 5ta ed.* Switzerland: World Health Organization; 2010. 286 p.
19. Montoya S, Díaz D, Reyes R, et al. Peritaje Médico Legal en delitos sexuales: Una pauta práctica para su correcta realización. *Revista chilena de obstetricia ginecología*. 2004; 69(1). [acceso 24 de abril de 2019]. Disponible en:  
[https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0717-75262004000100012](https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75262004000100012)
20. Sarmiento R. y Morris HJ. Marcadores para el diagnóstico genérico en la investigación criminalística de semen; reseña analítica. *Revista cubana de química*. 2005; 15(1). [acceso 16 de julio de 2019]. Disponible en:  
<https://go.galegroup.com/ps/anonymouse?id=GALE%7CA146633535&sid=googleScholar&v=2.1&it=r&linkaccess=abs&issn=02585995&p=IFME&sw=w>
21. Hochmeister O, Rudin UV, Borer A, Kratzer Ch, Gehrig, Dirnhofer R. Evaluation of Prostate-specific Antigen (PSA) Membrane Tests for the Forensic Identification of seminal fluid. *J Forensic Sci*. 1999; 44: 1057-1060.[acceso 18 de julio de 2019] Disponible en:  
[https://projects.nfstc.org/workshops/resources/articles/Evaluation%20of%20prostatespecific%20antigen%20\(PSA\)%20membrane%20test%20assays%20or%20the%20forensic%20identification%20of%20seminal%20fluid.pdf](https://projects.nfstc.org/workshops/resources/articles/Evaluation%20of%20prostatespecific%20antigen%20(PSA)%20membrane%20test%20assays%20or%20the%20forensic%20identification%20of%20seminal%20fluid.pdf)
22. Pavesi A. Valoración de cinc en manchas seminales y su aplicación en la práctica forense. *CienciaUAT*, 2010; 4(3). [acceso 20 de diciembre de 2018]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/4419/441942919010.pdf>
23. Pavesi A, Paparella C, Bouvet B, and Pitueli N. Prostatic acid phosphatase activity in basal seminal plasma and post exposition to high temperature. *Biocell*. 2008; 32 (3). [acceso 14 de octubre de 2019] Disponible en:  
[https://www.mendoza.conicet.gov.ar/portal/biocell/vol/pdf/32\\_3/08.pdf](https://www.mendoza.conicet.gov.ar/portal/biocell/vol/pdf/32_3/08.pdf)
24. Pavesi A, Paparella C, Bouvet B. Lactate Deshidrogenase: Activity in human seminal plasma. *Biocell*. 2011; 35 (2).
25. Alonso J. *Manual de control de calidad en productos textiles y afines*. Madrid: Universidad Politécnica de Madrid; 2015. 301 p.
26. Angulo Luna M. *Análisis del clúster textil en el Perú [tesis de pregrado]*. Lima. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2004. Disponible en :  
[https://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/Tesis/Ingenie/angulo\\_lm/angulo\\_lm.pdf](https://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/Tesis/Ingenie/angulo_lm/angulo_lm.pdf)
27. Prieto V. *El estudio de las agresiones sexuales en el laboratorio de biología*. Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses. Sevilla: departamento de Sevilla; 2009.
28. Prada A. *Violencia hacia la mujer en la relación de pareja: Una comprensión de cómo a través del proceso de dignificación de la mujer es posible salir de las dinámicas interaccionales [tesis de postgrado]*. Colombia. Pontificia Universidad Javeriana; 2012.
29. Hernandez R, Liminana R. Víctimas de violencia familiar: Consecuencias psicológicas en hijos de mujeres maltratadas. *Anales de psicología*. 2005; 21(1). [acceso en 31 de mayo del 2018]. Disponible en:

- [https://www.um.es/analesps/v21/v21\\_1/02-21\\_1.pdf](https://www.um.es/analesps/v21/v21_1/02-21_1.pdf)
30. INEI. Perú: Indicadores de violencia familiar y sexual, 2012-2019. Encuesta Demográfica y de Salud Familiar-ENDES. [En línea] 2019. Disponible en: [https://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones\\_digitales/Est/Lib1686/libro.pdf](https://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones_digitales/Est/Lib1686/libro.pdf)
  31. Proyecto de Ley 2316/2017 – CR, que propone la Ley que modifica el artículo 170 del Código Penal a fin de incrementar la pena base del delito de violación sexual. Publicado por el Congreso de la República [marzo de 2018]. Recuperado a partir de: [http://www.congreso.gob.pe/Docs/comisiones2017/Comision\\_de\\_Justicia\\_y\\_Derechos/files/predictamenes\\_2017-2018/pd\\_pl\\_1037\\_y\\_otros\\_violaci%C3%B3n\\_sexual.pdf](http://www.congreso.gob.pe/Docs/comisiones2017/Comision_de_Justicia_y_Derechos/files/predictamenes_2017-2018/pd_pl_1037_y_otros_violaci%C3%B3n_sexual.pdf)
  32. García, C. Aplicación de las técnicas de la inmunocitoquímica PSA y citoquímica PAS para el reconocimiento e identificación de espermatozoides en muestras forenses por violencia sexual en el Hospital Nacional Alberto Sabogal Soleguren, 2017 [tesis de postgrado]. Lima. Universidad Privada Norbert Wiener; 2017.
  33. FGE. Manual de procedimientos de laboratorio de biología forense. Sistema especializado integral de investigación, de medicina legal y ciencias forenses. Ecuador: FGE; 2012. [acceso 01 de octubre de 2018] Disponible en: [https://www.fiscalia.gob.ec/files/archivos%20AC/COIP%20073%20FGE/Area%20Ciencias%20Forenses/6\\_\\_Manual\\_de\\_Procedimientos\\_de\\_laboratorio\\_de\\_Biologa\\_Forense.pdf](https://www.fiscalia.gob.ec/files/archivos%20AC/COIP%20073%20FGE/Area%20Ciencias%20Forenses/6__Manual_de_Procedimientos_de_laboratorio_de_Biologa_Forense.pdf)
  34. Raymond JJ, Van Oorschot RA, Walsh SJ, Roux C. Trace DNA analysis: do you know what your neighbor is doing?. *Forensic Science International: Genetics*. 2008; 2(1): 19-28. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19083785/>
  35. Resolución de la gerencia general N°593-2015-MP-FN-GG, que aprueba las Normas para la retención de evidencias biológicas en el laboratorio. Publicado por el Ministerio Público [05 de agosto de 2015]. Disponible en: [https://www.mpfm.gob.pe/Docs/iml/files/26\\_-retencion\\_evidencias.pdf](https://www.mpfm.gob.pe/Docs/iml/files/26_-retencion_evidencias.pdf)
  36. Resolución de la Fiscalía de la Nación N° 1430- 2012 – MP-FN aprueba la Guía Médico Legal denominada evaluación física de la integridad sexual” elaborado por expertos profesionales del Instituto de Medicina Legal. Publicado en el Diario El Peruano [13 de junio de 2012]. Disponible en : <https://busquedas.elperuano.pe/normaslegales/aprueban-guia-medico-legal-denominada-evaluacion-fisica-de-resolucion-n-1430-2012-mp-fn-800883-7/>
  37. Hernández R. Metodología de la investigación: 6ta ed. México: McGraw-Hill; 2014.
  38. Gómez H. Hallazgo de Espermatozoides en Muestras de Contenido Vaginal respecto al Lapso de Tiempo del Ataque Sexual Reportado en Delitos contra la Libertad Sexual atendidos en la División Médico Legal B de Huaura, Lima; 2009.
  39. Savino J, Turvey. Rape Investigation Handbook. Reino Unido: Elsevier. 2005. [ acceso 24 agosto 2019] Disponible en: [https://books.google.com.pe/books?id=A2GdBgAAQBAJ&pg=PA42&lpg=PA42&dq=38.+Savino+J.+y+Turvey.+Investigation+Handbook.&source=bl&ots=8oh8d3KwN9&sig=ACfU3U2I69P0KnYHvrN8E5fOXReeOu\\_yBQ&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwi-zK3nno3qAhU7GbkGHeLDAHkQ6AEwAXoECAUQAQ#v=onepage&q=38.%20Savino%20J.%20y%20Turvey.%20Investigation%20Handbook.&f=false](https://books.google.com.pe/books?id=A2GdBgAAQBAJ&pg=PA42&lpg=PA42&dq=38.+Savino+J.+y+Turvey.+Investigation+Handbook.&source=bl&ots=8oh8d3KwN9&sig=ACfU3U2I69P0KnYHvrN8E5fOXReeOu_yBQ&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwi-zK3nno3qAhU7GbkGHeLDAHkQ6AEwAXoECAUQAQ#v=onepage&q=38.%20Savino%20J.%20y%20Turvey.%20Investigation%20Handbook.&f=false)

## **ANEXOS**

**Anexo 1.** Curva ajustada del efecto de la temperatura y el tiempo sobre las células espermáticas. Ayacucho 2019.



**Anexo 2.** Análisis de varianza con dos factores, en soportes de telas impregnado con fluido seminal, Ayacucho 2019.

<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>SC Ajust.</b>	<b>MC Ajust.</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor p</b>
Días	5	4789.61	957.922	601.63	0.000
Temperatura	1	106.78	106.778	67.06	0.000
Días*temperatura	5	29.33	5.866	3.68	0.013
Error	24	38.21	1.592		
Total	35	4963.93			

P valor < 0.05 (Se rechaza la hipótesis nula)

**Anexo 3.** Comparaciones en parejas usando el método de Tukey a un nivel de confianza del 95% entre el tiempo y la temperatura en soportes de telas impregnados con fluido seminal, Ayacucho 2019.

Días*Temperatura	N	Media	Agrupación
4 37°C	3	48.4000	A
4 25°C	3	41.6667	B
8 37°C	3	30.0667	C
8 25°C	3	25.6000	D
12 37°C	3	22.5333	D E
12 25°C	3	20.7333	E F
16 37°C	3	18.6667	F G
20 37°C	3	15.4000	G H
16 25°C	3	15.0667	G H
20 25°C	3	12.6667	H I
24 37°C	3	10.6000	I
24 25°C	3	9.2667	I

**Anexo 4.** Efecto del factor tiempo usando el método de Tukey a un nivel de confianza del 95% en soportes de telas impregnados con fluido seminal, Ayacucho 2019.

Días	N	Media	Agrupación
4	6	45.0333	A
8	6	27.8333	B
12	6	21.6333	C
16	6	16.8667	D
20	6	14.0333	E
24	6	9.9333	F

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



**Anexo 5.** Efecto del factor temperatura usando el método de Tukey a un nivel de confianza del 95% en soportes de telas impregnados con fluido seminal, Ayacucho 2019.

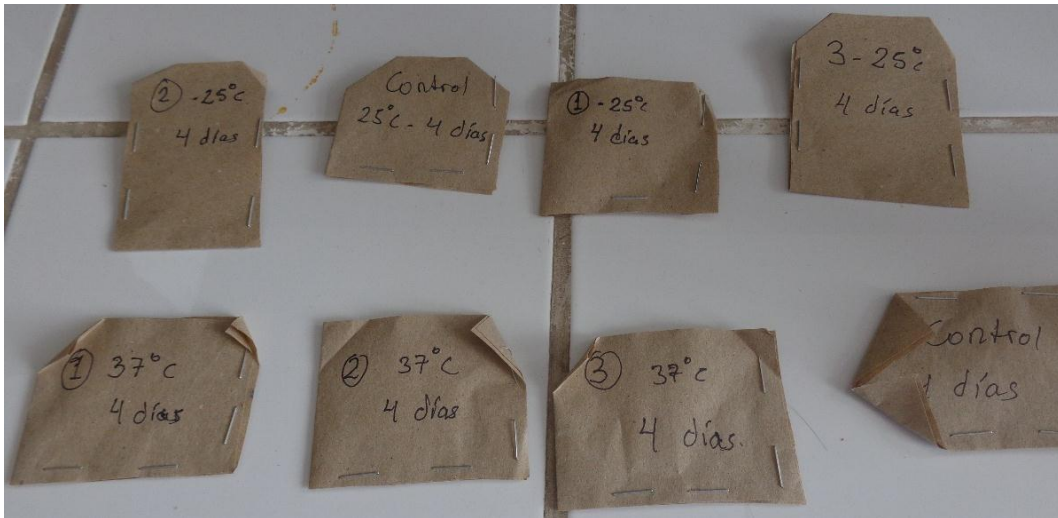
<b>Temperatura</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Agrupación</b>
37°C	18	24.2778	A
25°C	18	20.8333	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

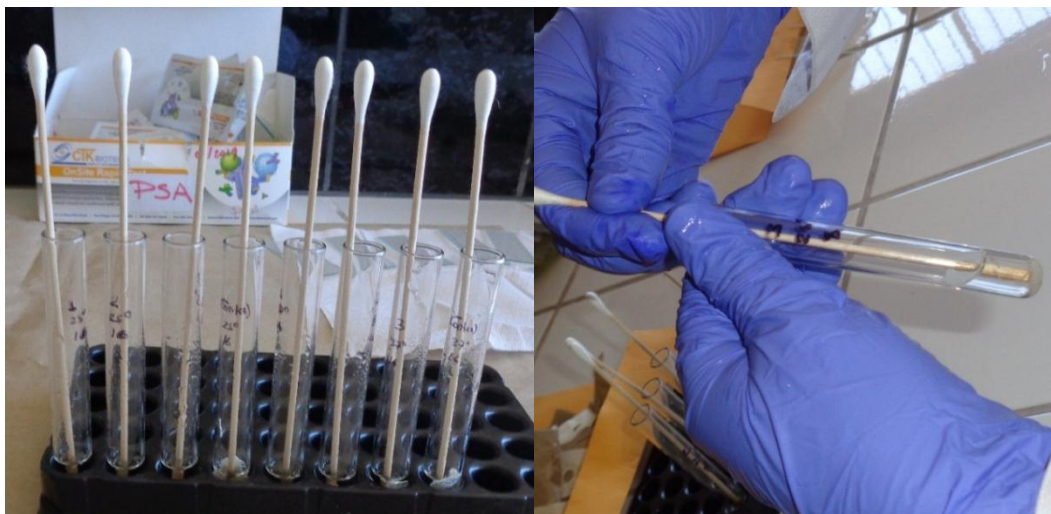
**Anexo 6.** Fotografía de la impregnación del fluido seminal sobre los soportes de algodón, realizado en el laboratorio de Inmunología y Microbiología Clínica de la Escuela Profesional de Biología. Ayacucho 2019.



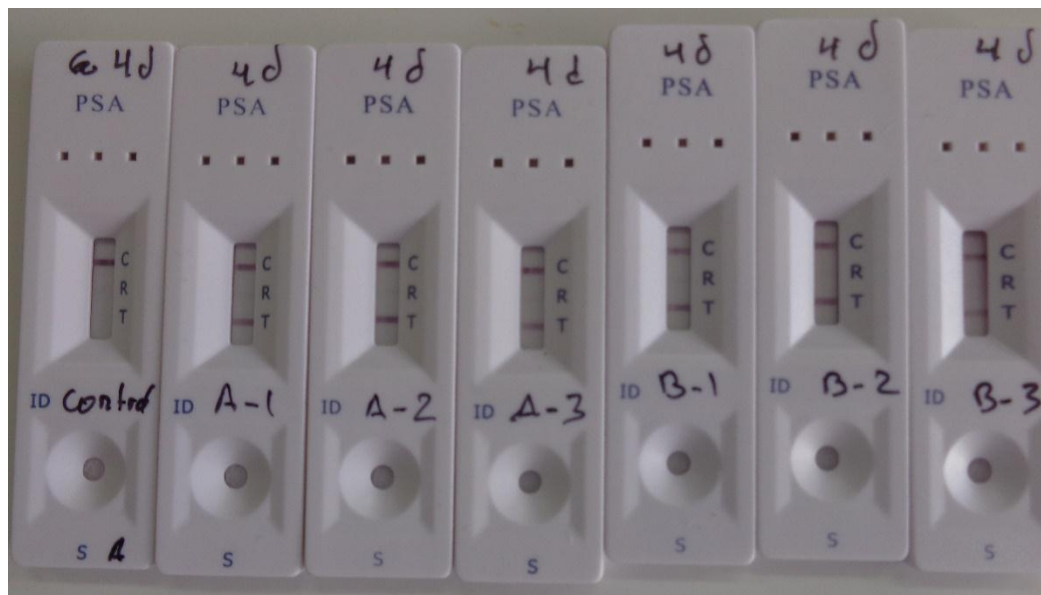
**Anexo 7.** Fotografía del rotulado y almacenamiento de las telas secas de algodón impregnadas con fluido seminal en sobres de papel kraft, realizado en el laboratorio de Inmunología y Microbiología Clínica de la Escuela Profesional de Biología. Ayacucho 2019.



**Anexo 8.** Fotografía de la recuperación de la muestra de espermatozoides con ayuda de materiales estériles, realizado en el laboratorio de Inmunología y Microbiología Clínica de la Escuela Profesional de Biología. Ayacucho 2019.



**Anexo 9.** Fotografía de la reactividad del PSA a 25°C (A) y 37°C (B), usando pruebas rápidas, en el laboratorio de Inmunología y Microbiología Clínica de la Escuela Profesional de Biología. Ayacucho 2019.



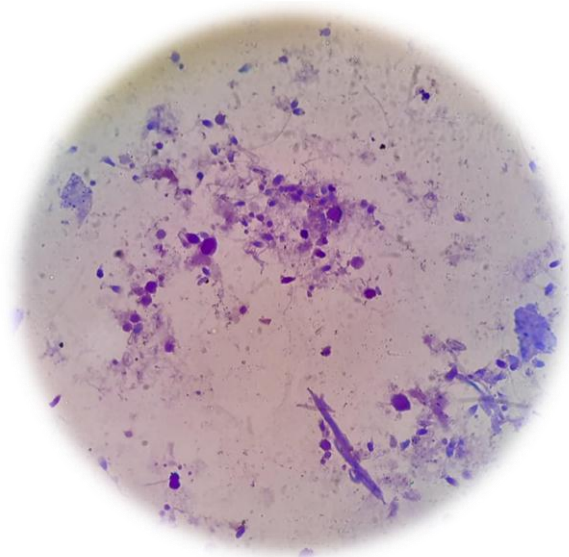
**A**

**B**

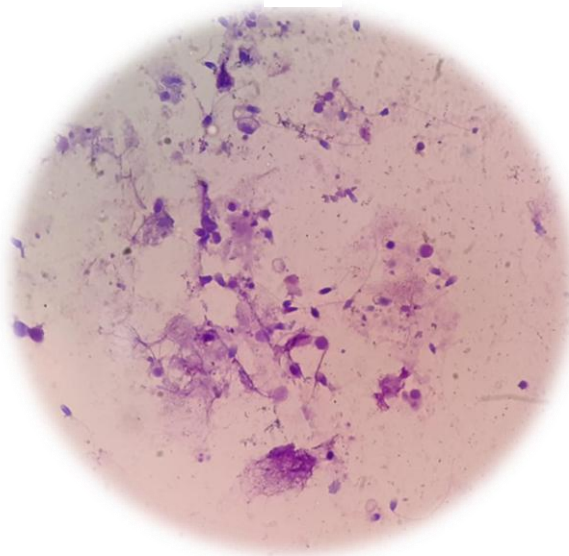


**Anexo 10.** Fotografía de la observación microscópica de las células espermáticas a los 4 días incubación a 37°C (A) y 25°C (B), con una cámara marca LEICA en el laboratorio del Instituto de Medicina Legal. Ayacucho 2019.

**A**

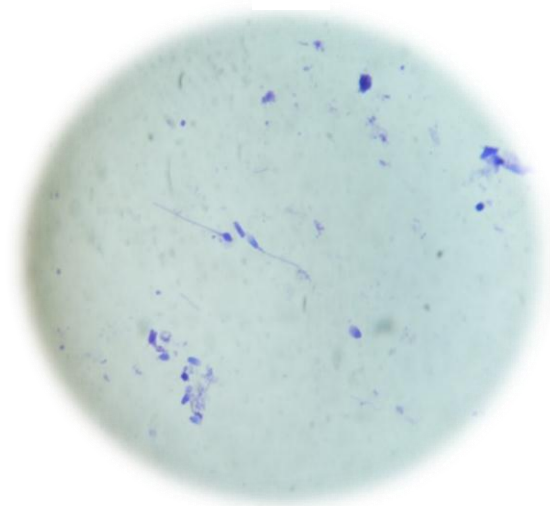


**B**

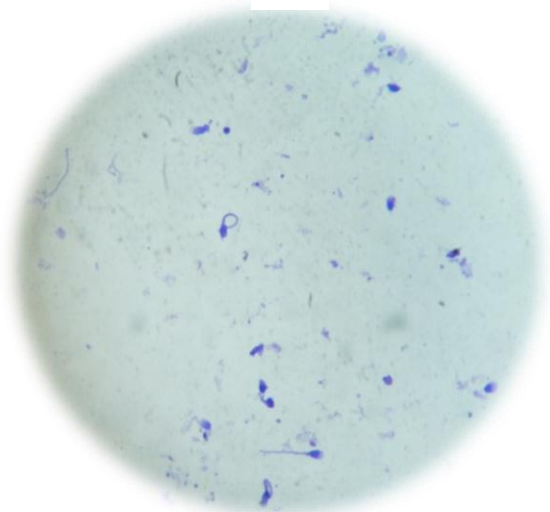


**Anexo 11.** Fotografía de la observación microscópica de las células espermáticas a los 24 días incubación a 37 °C (A) y 25°C (B), con una cámara marca LEICA en el laboratorio del Instituto de Medicina Legal. Ayacucho 2019.

**A**



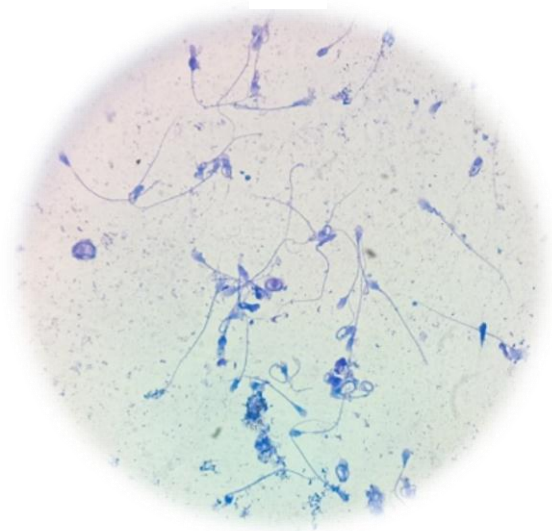
**B**



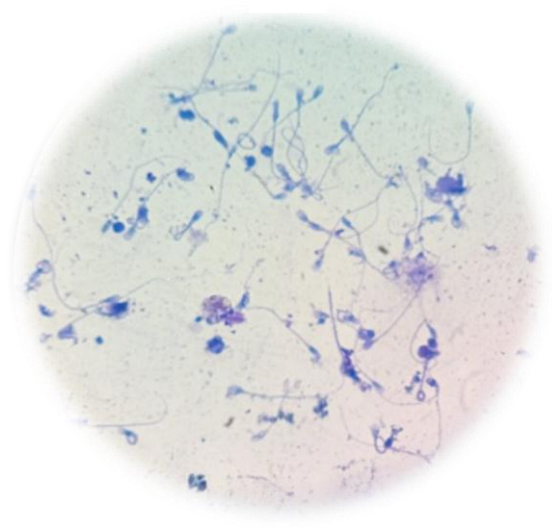


**Anexo 12.** Fotografía de la observación microscópica de las células espermáticas al inicio del experimento (0 horas) 37 °C (A) y 25°C (B), con una cámara marca LEICA en el laboratorio del departamento de Medicina Legal. Ayacucho 2019.

**A**




**B**





**Anexo 13.** Espermograma realizado a los donadores voluntarios (pacientes normozoospermicos) de la muestra de fluido seminal realizado en la clínica privada VIDALAB. Ayacucho 2019.



**DATOS DE IDENTIFICACIÓN**

Fecha : 01/06/2019  
 Nombre del Paciente :   
 Edad : 24  
 Solicitado por : PARTICULAR

**CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS DEL SEMEN**

Licuefacción	COMPLETA	Aspecto	HOMOGENEO
Viscosidad	NORMAL	Olor	:
Volumen	3.42	Color	OPALESECENTE
(V.R. - LIR: 1.5 mL)		pH	7.5
		(V.R. - LIR: 7.2)	
Agregaciones	NO	Aglutinación	GRADO I

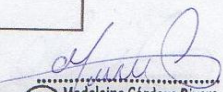
**CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS DEL SEMEN**

**NUMERO DE ESPERMATOZOIDES**

Espermatozoides por ml	<b>71.0</b>	millones/ml	(V.R. - LIR: 15 millones/ ml)
Espermatozoides por eyaculado	<b>242.8</b>	millones/eyac	(V.R. - LIR: 39 millones/eyac)

**MOTILIDAD**

Motilidad Progresiva (PR)	<b>76%</b>
Motilidad No Progresiva (NP)	<b>16%</b>
Inmotilidad (IM)	<b>8%</b>
(V.R. - LIR: PR: 32%)	

  
 Madelaine Córdova Rivero  
 Tecnólogo Médico  
 CTMP 2882  
 Laboratorio Biolab

Los Exámenes de Laboratorio es una ayuda al Diagnostico Medico  
 Informes: Celular: # 999204032 - #999205032  
 Jr.26 de Enero N° 336



**MORFOLOGÍA ESTRICTA**

	Porcentaje (%)
Normales	62.0%
Anormales	38.0%

(V.R. - LIR: 4%)

Anormales	Porcentaje
Def. Cabeza	24.0%
Def. Pieza Int.	5.0%
Def. Cola	13.0%
ERC	2.0%

(V.R.: < 10%)

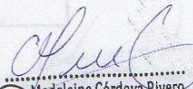
**VITALIDAD (EOSINA)**

Espermatozoides vivos	81%	(V.R. - LIR: 58%)
Espermatozoides muertos	19%	

**DIAGNÓSTICO**

**NORMOZOOSPERMIA**

**OBS: Reporte basado en lineamientos del 5to Manual OMS 2010.**

  
Madelaine Córdova-Rivero  
Tecnólogo Médico  
CTMP 2882  
Laboratorio Biolab

**Anexo 14.** Constancia de autorización para el ingreso al laboratorio de Biología Forense del Instituto de Medicina Legal de Ayacucho.



*“Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad”*



INSTITUTO DE MEDICINA LEGAL Y  
CIENCIAS FORENSES  
UNIDAD MÉDICO LEGAL II AYACUCHO

## CONSTANCIA

El que suscribe por medio de la presente, doy fe que el Señor Carlos Junior SALVATIERRA SAUÑE, con DNI 72764347, egresado de la Escuela Profesional de Biología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad de San Cristóbal de Huamanga, como parte de su tesis y solo con fines de Investigación científica, realizó la observación y lectura de espermatozoides en el Microscopio con cámara fotográfica Digital en las muestras preparadas por dicho egresado desde el día 04 de Junio al 12 de Julio del presente año; en el Laboratorio de Biología Forense de la Unidad Médico Legal II de Ayacucho, la cual dirijo.

Se expide la presente constancia, a petición del interesado para los fines que considere conveniente.

Ayacucho, 19 de Julio del 2019.



MINISTERIO PÚBLICO  
INSTITUTO DE MEDICINA LEGAL  
Y CIENCIAS FORENSES

DAVID CUEVA MANRIQUE  
MÉDICO JEFE DE LA UNIDAD MÉDICO  
LEGAL "II" DE AYACUCHO

## Anexo 15. Matriz de consistencia

**Título:** Efecto del tiempo y la temperatura sobre el Antígeno Prostático Específico (PSA) y las células espermáticas en manchas de telas de interés forense. Ayacucho 2020

**Autor:** Salvatierra Sauñe, Carlos Junior

PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES E INDICADORES	METODOLOGÍA
¿Cuál será el efecto del tiempo y la temperatura sobre el Antígeno Prostático Específico (PSA) y las células espermáticas en manchas de telas de interés forense?	<p>Objetivo general</p> <p>Conocer el efecto del tiempo y la temperatura sobre el Antígeno Prostático Específico (PSA) y las células espermáticas en manchas de telas de interés forense.</p> <p>Objetivos específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Determinar la variación que ejerce el tiempo sobre las células espermáticas y el Antígeno Prostático Específico (PSA) en manchas de telas.</li> <li>• Determinar la variación que ejerce la temperatura sobre las células espermáticas y el Antígeno Prostático Específico (PSA) en manchas de telas.</li> </ul>	<p>Antecedentes</p> <p>Marco conceptual</p> <p>Bases teóricas</p> <p>Fluido seminal</p> <p>Manchas de fluido seminal en diferentes soportes</p> <p>Aspecto de las manchas según el soporte</p> <p>Formación del fluido seminal</p> <p>Composición del fluido seminal.</p> <p>a. Células espermáticas</p> <p>b. PSA</p> <p>c. Otros marcadores bioquímicos</p> <p>Tela de algodón</p> <p>Tipos y calidades de algodón</p> <p>Factores que afectan al fluido seminal.</p> <p>Violencia Sexual</p> <p>Violación sexual y pena judicial.</p> <p>Tipos de pruebas para la determinación del fluido seminal</p> <p>a. Pruebas orientativas</p> <p>b. Pruebas confirmativas</p> <p>Técnicas de identificación microscópica de células espermáticas</p> <p>Homologación del ADN</p>	<p>La temperatura y el tiempo influyen sobre el Antígeno Prostático Específico (PSA) y las células espermáticas en manchas de tela de interés forense.</p>	<p><b>Variable independiente</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Temperatura</li> <li>- Tiempo</li> </ul> <p><b>Indicadores</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- °C</li> <li>- Días</li> </ul> <p><b>Variable dependiente</b></p> <p>Células espermáticas y Antígeno Prostático Específico</p> <p><b>Indicadores</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Número de células espermáticas.</li> <li>- Reactividad del PSA.</li> </ul>	<p>Diseño de investigación</p> <p>Cuasi-experimental</p> <p>Tipo de investigación</p> <p>Aplicado</p> <p>Muestra.</p> <p>48 trozos de tela de algodón 2 cm x 2 cm</p> <p>Técnicas</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Observación directa con el colorante cristal violeta</li> <li>- Inmuncromatografía para PSA</li> <li>- Análisis estadístico</li> </ul> <p>Se aplicó el Análisis de varianza para dos factores y la prueba de Tukey a un 95% de confianza, debido a que los datos cumplían con distribución normal.</p>