

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL  
DE HUAMANGA**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**



**TESIS:**

**Determinación de la concentración mínima para la detección de  
manchas secas de semen con técnicas forenses, Ayacucho 2023**

Para optar el título profesional de:

**BIÓLOGA, ESPECIALIDAD: MICROBIOLOGÍA**

**PRESENTADO POR:**

**Bach. Flor Katherine TINEO MEDINA**

**ASESORA:**

**Mg. Ruth Elsa HUAMÁN DE LA CRUZ**

**AYACUCHO - PERÚ**

**2024**

A mis padres y hermanos, por ser los pilares en los que me he apoyado durante este viaje académico. A Pol Jesús, aunque no estés aquí físicamente para celebrar este logro.

Flor.

## **AGRADECIMIENTO**

A mi querida *Alma Mater*, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, por acogerme en sus aulas durante estos años de estudios universitarios, y por haberme formado profesionalmente.

A la Escuela Profesional de Biología, de la Facultad de Ciencias Biológicas, en especial a los docentes del Programa Académico de Microbiología por brindarme las herramientas y conocimientos necesarios.

A la Unidad Médico Legal II del Ministerio Público de Ayacucho por las facilidades para el ingreso y desarrollo del trabajo de investigación.

A mi asesora, la Mg. Ruth Elsa Huamán De la Cruz, de la Escuela Profesional de Biología de la UNSCH, por brindarme sus sabios consejos y apoyo incondicional, durante la planificación, ejecución y presentación del presente trabajo de investigación.

A mi asesora externa, la Blga. Ana María Chuchón Henríquez por los conocimientos brindados en la ejecución del trabajo.

A Manuel, por creer en mí e impulsarme a seguir adelante y ser mi apoyo incondicional.

## ÍNDICE GENERAL

|                                                                   | <b>Página</b> |
|-------------------------------------------------------------------|---------------|
| DEDICATORIA                                                       | ii            |
| AGRADECIMIENTOS                                                   | iii           |
| INDICE GENERAL                                                    | iv            |
| INDICE DE TABLAS                                                  | v             |
| INDICE DE GRÁFICOS                                                | vi            |
| INDICE DE ANEXOS                                                  | vii           |
| RESUMEN                                                           | viii          |
| I. INTRODUCCIÓN                                                   | 1             |
| II. MARCO TEÓRICO                                                 | 3             |
| 2.1. ANTECEDENTES                                                 | 3             |
| 2.2. MARCO CONCEPTUAL                                             | 6             |
| 2.3. FUNDAMENTO TEÓRICO                                           | 8             |
| 2.3.1. Espermatología forense                                     | 8             |
| 2.3.2. Fluido seminal                                             | 8             |
| 2.3.4. Composición del fluido seminal                             | 9             |
| 2.3.5. Células espermáticas                                       | 9             |
| 2.3.6. Importancia del fluido seminal en biología forense         | 9             |
| 2.3.7. Factores ambientales que afectan al fluido seminal         | 10            |
| 2.3.8. Aspecto de las manchas según el soporte donde se encuentra | 10            |
| 2.3.9. Delitos de violación sexual                                | 10            |
| 2.3.10. Telas usadas en el campo forense                          | 11            |
| 2.3.11. Técnicas para la detección del semen                      | 11            |
| a. Pruebas orientativas                                           | 11            |
| b. Pruebas de certeza                                             | 11            |
| b.1. Métodos microscópicos                                        | 11            |
| b.2. Pruebas bioquímicas para el estudio del semen                | 11            |
| b.2.1. Fosfatasa ácida prostática (FAP)                           | 11            |
| b.2.2. Antígeno prostático específico (PSA)                       | 12            |
| b.2.3. Semenogelina I y II                                        | 12            |
| III. MATERIALES Y MÉTODOS                                         | 13            |
| 3.1. Ubicación                                                    | 13            |
| 3.2. Tipo de investigación                                        | 13            |
| 3.3. Diseño de Investigación                                      | 13            |
| 3.4. Metodología y recolección de datos                           | 13            |
| 3.4.1. Fase pre analítica                                         | 14            |
| 3.4.2. Fase analítica                                             | 15            |
| 3.4.3. Fase post analítica                                        | 16            |
| IV. RESULTADOS                                                    | 17            |
| V. DISCUSIÓN                                                      | 24            |
| VI. CONCLUSIONES                                                  | 28            |
| V. RECOMENDACIONES                                                | 29            |
| VI, REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS                                    | 30            |
| ANEXOS                                                            | 34            |

## ÍNDICE DE TABLAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Página |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| Tabla 1. Coordenadas de la curva de característica operativa del receptor ROC para determinar la concentración mínima detectable por la prueba de certeza bioquímica de fosfatasa ácida en manchas secas de semen en telas de algodón.                                                 | 18     |
| Tabla 2. Coordenadas de la curva de característica operativa del receptor ROC para determinar la concentración mínima detectable por la prueba de antígeno prostático específico (PSA) en manchas secas de semen en telas de algodón. Ayacucho-2023.                                   | 20     |
| Tabla 3. Coordenadas de la Curva de característica operativa del receptor (ROC) para determinar la mínima concentración detectable por la prueba de conteo de células espermáticas mediante el colorante cristal violeta en manchas secas de semen en telas de algodón. Ayacucho-2023. | 22     |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                      | Página |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| Figura 1. Curva de característica operativa del receptor (ROC) para determinar la concentración mínima de manchas secas de semen por la prueba de certeza bioquímica de fosfatasa ácida en telas de algodón. Ayacucho-2023.                                          | 19     |
| Figura 2. Curva de característica operativa del receptor (ROC) para determinar la concentración mínima detectable por la prueba de antígeno prostático específico en manchas secas de semen en telas de algodón. Ayacucho-2023.                                      | 21     |
| Figura 3. Curva de característica operativa del receptor (ROC) para determinar la concentración mínima detectable por la prueba de conteo de células espermáticas mediante el colorante cristal violeta en manchas secas de semen en telas de algodón. Ayacucho-2023 | 23     |

## ÍNDICE DE ANEXOS

|                                                                                                                                                                                                                        | Página |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| Anexo 1                                                                                                                                                                                                                | 35     |
| Área bajo la curva de característica operativa del receptor (ROC) para la prueba de certeza bioquímica de fosfatasa ácida en manchas secas de semen en telas de algodón. Ayacucho-2023.                                |        |
| Anexo 2                                                                                                                                                                                                                | 36     |
| Área bajo la curva de característica operativa del receptor (ROC) para la prueba antígeno prostático específico (PSA) en manchas secas de semen en telas de algodón. Ayacucho-2023.                                    |        |
| Anexo 3                                                                                                                                                                                                                | 37     |
| Área bajo la curva de característica operativa del receptor (ROC) para la prueba de conteo de células espermáticas mediante el colorante cristal violeta en manchas secas de semen en telas de algodón. Ayacucho-2023. |        |
| Anexo 4.                                                                                                                                                                                                               | 38     |
| Frecuencia de resultados obtenidos en la prueba de certeza bioquímica de fosfatasa ácida para el estudio de manchas secas de semen en la Unidad Médico Legal II. Ayacucho-2023.                                        |        |
| Anexo 5.                                                                                                                                                                                                               | 39     |
| Frecuencia de resultados obtenidos en la prueba de antígeno prostático específico para el estudio de manchas secas de semen en la Unidad Médico Legal II. Ayacucho-2023.                                               |        |
| Anexo 6.                                                                                                                                                                                                               | 40     |
| Frecuencia de resultados obtenidos en la prueba de método microscópico para el estudio de manchas secas de semen en la Unidad Médico Legal II. Ayacucho-2023.                                                          |        |
| Anexo 7.                                                                                                                                                                                                               | 41     |
| Tabla de contingencia 2x2 de la prueba de certeza bioquímica de fosfatasa ácida para el estudio de manchas secas de semen en la Unidad Médico Legal II. Ayacucho-2023                                                  |        |
| Anexo 8                                                                                                                                                                                                                | 42     |
| Tabla de contingencia 2x2 de antígeno prostático específico para el estudio de manchas secas de semen en la Unidad Médico Legal II. Ayacucho-2023.                                                                     |        |
| Anexo 9.                                                                                                                                                                                                               | 43     |
| Tabla de contingencia 2x2 de la prueba de certeza método microscópico para el estudio de manchas secas de semen en la Unidad Médico Legal II. Ayacucho-2023.                                                           |        |
| Anexo 10.                                                                                                                                                                                                              | 44     |
| Documento de autorización para el desarrollo de la investigación en la Unidad Médico Legal II del Ministerio Público de Ayacucho.                                                                                      |        |
| Anexo 11.                                                                                                                                                                                                              | 45     |
| Consentimiento informado para los donadores voluntarios.                                                                                                                                                               |        |
| Anexo 12.                                                                                                                                                                                                              | 46     |
| Resultados de los espermogramas realizados a los donadores                                                                                                                                                             |        |
| Anexo 13.                                                                                                                                                                                                              | 50     |
| Área de trabajo en el laboratorio de la Unidad Médico Legal II del Ministerio Público de Ayacucho.                                                                                                                     |        |
| Anexo 14.                                                                                                                                                                                                              | 51     |
| Flujograma de trabajo en la Unidad Médico Legal II del Ministerio Público de Ayacucho                                                                                                                                  |        |
| Anexo 15.                                                                                                                                                                                                              | 52     |
| Fotografías de los resultados obtenidos en la investigación.                                                                                                                                                           |        |
| Anexo 16.                                                                                                                                                                                                              | 53     |
| Matriz de consistencia.                                                                                                                                                                                                |        |

## RESUMEN

La investigación tiene como objetivo determinar la mínima concentración detectable, por las técnicas forenses de: fosfatasa ácida, antígeno prostático y observación de células espermáticas en manchas secas de semen. Se emplearon 232 telas de algodón con un área de 25 cm<sup>2</sup> cada una, impregnadas con diferentes concentraciones de fluido seminal, en todos los casos a una cantidad inferior a 200 µL hasta 1 µL como concentración mínima, estos se dejaron secar por 48 horas a temperatura ambiente para posteriormente realizar las pruebas correspondientes. La investigación es de tipo cuasi experimental, aplicada y fue realizada en los ambientes de la Unidad Médico Legal II de Ayacucho del Ministerio Público; y, las técnicas utilizadas fueron: pruebas rápidas para la detección de antígeno prostático, prueba bioquímica para la detección de fosfatasa ácida y para la observación de las células espermáticas con colorante cristal violeta para uso forense. La concentración mínima de detección de las pruebas se corroboró tras evaluar la curva de característica operativa del receptor (ROC), para determinar el punto de corte donde se alcanza la sensibilidad y especificidad más alta de estas pruebas para la mínima concentración de manchas secas de semen; obteniendo, 25 µL de concentración mínima detectable con la prueba bioquímica de fosfatasa ácida, con una sensibilidad de 74% y 4,9% de falsos positivos; para la detección de antígeno prostático la concentración mínima de fluido seminal fue de 15 µL con una sensibilidad de 74% y 3,4% de falsos positivos; y, finalmente para lograr observar las células espermáticas; la concentración mínima fue de 45 µL, con un área mayor bajo la curva ROC de 0,983, con una sensibilidad de 98% y 1% de falsos positivos.

**Palabras clave:** pruebas forenses, concentración mínima, sensibilidad, especificidad, manchas secas de semen.



## I. INTRODUCCIÓN

La investigación se refiere a la determinación de la concentración mínima para la identificación de manchas secas de semen mediante técnicas forenses, como fosfatasa ácida, el antígeno prostático y la observación microscópica, que se utilizan en casos de agresiones sexuales.

Estas técnicas permiten a los expertos en criminalística recopilar, analizar y probar evidencia biológica que puede ser crucial para resolver casos legales. Las muestras de esperma se toman directamente para garantizar su integridad, y en el laboratorio se emplean diversos métodos científicos para detectar la presencia de este fluido y vincularlo con individuos que puedan estar relacionados con el crimen. Según Quispe *et al.*(2009), la identificación de espermatozoides, la actividad de la fosfatasa ácida prostática (FAP) y el antígeno prostático específico, son los métodos más eficaces.

Los métodos forenses de análisis del líquido seminal, junto con sus parámetros de sensibilidad y especificidad, son componentes importantes de las investigaciones científico-criminales. Estas tecnologías pueden identificar con precisión evidencia biológica en el semen, lo que ayuda a resolver casos complejos. La sensibilidad, hace referencia a la capacidad de analizar correctamente la presencia de un analito, a diferencia de la especificidad que hace referencia a la facultad de detectar adecuadamente la ausencia de un analito. La combinación de estas características es primordial para asegurar la confiabilidad de los hallazgos en la ciencia forense.

Sin embargo, existen estudios que demuestran que uno de ellos es fiable más que otro. Así como manifiesta Quispe *et al.* (2009), quienes utilizaron tres técnicas para identificar los elementos del semen: la FAP, el PSA y la observación de células espermáticas. En 130 casos confirmados, la FAP determinó a un 56% (120 víctimas), y la prueba de PSA determinó un 60% (130 víctimas), siendo estos los ensayos con mayor índice de hallazgos positivos. En cambio, la observación de células espermáticas determinó un 26% (55 víctimas).

Se puede apreciar que existe una variación en cuanto a los porcentajes de resultados positivos en esta investigación, al igual que la investigación realizada por Herman *et al.* (2015), quienes emplearon pruebas rápidas del PSA de uso forense y el reactivo de FAP. Ellos determinaron que, de un total de 49 muestras provenientes de diferentes soportes, como prendas interiores, papel higiénico, hisopado anales, como también vaginales, 43 fueron resultados afirmativos tanto con reactivo FAP, PSA y microscopía. De estas, 30 muestras reflejaron resultados afirmativos a la de PSA y 34 resultados afirmativos a FAP, lo que indica que hubo resultados afirmativos a FAP, pero muestras sin evidencia a PSA, e inversamente. En 23 evidencias hubo confirmación de positividad entre PSA y FAP, y solo en diecisiete se identificaron esperma.

Frente a las discrepancias reflejadas en diversos estudios acerca del porcentaje de sensibilidad de los exámenes forenses, y, considerando la relevancia de los métodos forenses empleados para la identificación de espermatozoides dentro del contexto de las investigaciones criminales, resulta fundamental abordar la presencia de este fluido biológico, dada su alta sensibilidad y especificidad. La determinación precisa de la concentración mínima detectable de los componentes seminales es crucial para garantizar la fiabilidad y validez de los resultados obtenidos, lo que no solo contribuye a la resolución de litigios, sino también a la correcta administración de justicia.

### **Objetivo general**

- Identificar la concentración mínima para la detección de manchas secas de semen con técnicas forenses- Ayacucho 2023.

### **Objetivos específicos**

- Determinar manchas secas de semen a concentraciones inferiores a 200  $\mu$ L mediante la técnica de fosfatasa ácida.
- Determinar manchas secas de semen a concentraciones inferiores a 200  $\mu$ L mediante la técnica del antígeno prostático específico.
- Determinar manchas secas de semen a concentraciones inferiores a 200  $\mu$ L mediante la técnica de observación directa.

## **II. MARCO TEÓRICO**

### **2.1. ANTECEDENTES**

#### **2.1.1. Antecedentes internacionales**

Chinlle (2023), en Ecuador, realizó su estudio titulado “Métodos de coloración e inmunología para identificar espermatozoides en muestras de crímenes sexuales”, cuyo objetivo era definir los procedimientos de inmunología y coloración en espermatozoides en muestras de crímenes sexuales. El enfoque empleado fue descriptivo, utilizando un diseño bibliográfico, sin intervención, retrospectivo, en la cual la muestra considerada fue de 67 publicaciones científicas y 24 muestras extraídas de bases digitales. Resultados tomados, muestran de la prueba para la identificación por la fosfatasa ácida se realiza el 29,76%, mientras que las tinciones de Christmas tree son más frecuentes 51,83%; todos con una excelente especificidad y sensibilidad. La investigación concluye señalando que las técnicas inmunológicas y de coloración aportan resultados valiosos para la indagación en casos de transgresiones sexuales, donde el espermatozoides es la sospecha biológica principal.

Gonzales (2022), llevó a cabo la investigación titulada “Determinar rastros de semen en situaciones de crímenes y su relevancia en la indagación forense en Panamá”, realiza un análisis detallado de los avances más recientes de las técnicas de análisis científico forenses, a través de una descripción de las metodologías técnico-científicas empleadas en este campo. La investigación destaca la relevancia de que la unidad de Criminalística y Medicina Legal realice sus acciones de inmediato en búsqueda y recolección de vestigios biológicos en la escena y delitos al cuerpo de mi víctima, para los casos de violencia sexual. El actuar temprano del perito es fundamental para alcanzar una eficiente y confiable actividad probatoria en las pruebas periciales científicas. El investigador concluye que las técnicas orientativas al reconocimiento de residuos de espermatozoides se concentran principalmente en la identificación de proteínas de funciones específicas, destacando que, en los últimos años se han diseñado nuevas pruebas

para la localización, identificación e identificación de residuos seminales y esperma.

Zagal (2016), en México, realizó el estudio titulado “Reconocimiento de fosfatasa ácida, P30 y esperma recolectado en hisopos a diversas diluciones y periodos de almacenamiento”, tiene el objetivo de analizar la sensibilidad y especificidad de los análisis, así determinar el período de tiempo en que estas siguen proporcionando resultados positivos. Utilizó 5 muestras de líquido seminal, sometiéndolas a diluciones de; 1:2, 1:4 y 1:100 y se evaluaron a intervalos de 12 y 24 horas durante distintos períodos de almacenamiento. Los resultados encontrados señalaron que, en el examen de identificación de fosfatasa ácida, la dilución de 1:2 es detectable hasta un mes después de la recolección, la dilución 1:4 hasta 15 días y la dilución 1:100 hasta 7 días. En cuanto a la prueba de identificación de antígeno prostático P30 se determinó que, a pesar del tiempo y de las diversas diluciones, el antígeno siguió siendo detectable; para la observación de células espermáticas coloreadas con la pericia de *christmas tree*, se observó que los especímenes 3 y 5 empiezan la degradación de los espermatozoides al día 9, y en la dilución 1:100 no se visualizan células espermáticas. En general, este estudio facilita información útil sobre la sensibilidad y especificidad de los análisis utilizados y de emplear los métodos adecuados según el tiempo transcurrido desde la recolección de las muestras, evitando la pérdida de indicios valiosos debido a la degradación de las muestras, especialmente cuando la cantidad es limitada.

#### **2.1.2. Antecedentes nacionales**

Ponce (2021), realizó la exploración titulada; “Estudio académico en el Laboratorio de Biología Forense, Unidad de Criminalística, acerca de la identificación de resto seminal como prueba criminal, durante el año 2017”. A 196 muestras de, escenas del delito, ropa, sujetos investigados y víctimas por caso de violencia sexual, se aplicaron la prueba de identificación de fosfatasa ácida como análisis orientativo y como confirmatoria de la observación de células espermáticas. Se encontró 118 muestras reactivas y 78 muestras no reactivas; durante el año de estudio, en los casos de escena del delito se encontró 8 muestras efectivas y 8 muestras nulas; y, en ropa se obtuvieron 62 resultados afirmativos y 54 muestras sin evidencia.

Marquez (2019), realizó la investigación “La efectividad del antígeno prostático y la fosfatasa ácida en la detección de espermatozoides en ropa de mujeres víctimas de abuso sexual en la unidad médica legal II de Lima-norte, durante el año 2017 y 2018”. Analizó 129 muestras (100 %) de ropa; observándose, mediante un examen microscópico, la presencia de células espermáticas en el 70% de las ropas correspondientes a las víctimas de agresión sexual, 73% de prendas presentaron resultados afirmativos a la PSA y 65% de indicaron prendas resultados afirmativos a la prueba de fosfatasa ácida (ACP). Se determinó una eficacia del 100% para la identificación del espermatozoides en ropa, mediante el uso de la PSA; la ACP mostró una efectividad del 91%, corroborando los resultados positivos mediante la microscopía, lo que respalda la alta fiabilidad de las pruebas utilizadas en el contexto de la identificación del espermatozoides en casos de violación sexual.

Tineo, *et al.* (2015), realizaron en Perú Perú “Estudio de fluidos seminales mediante pruebas rápidas para detectar PSA, FAP y microscopía en muestras vinculadas a crímenes sexuales”. El objetivo fue determinar la fiabilidad de dichas pruebas para la identificación de fluidos seminales. Analizaron 49 tipos de muestras, en las cuáles se realizaron las pruebas de identificación de PSA, la identificación de FAP y la observación microscópica de células espermáticas coloreadas con hematoxilina. Se concluyó que, en 43 de los especímenes analizados, se identificó la existencia de fluidos seminales mediante las pruebas de identificación de fosfatasa ácida, PSA y microscopía. Donde 30 muestras resultaron reactivas a las pruebas del antígeno prostático, mientras que 34 muestras fueron resultados afirmativos a la FAP. En el análisis de la observación de células espermáticas por microscopía se observaron espermatozoides en 22 muestras de los cuales 2 mostraron resultados negativos. Concluyen que la sensibilidad de la prueba de la fosfatasa ácida fue del 86 %, de la prueba rápida del antígeno prostático fue del 81,8 %. Estos resultados varían según el tipo de muestra analizada, lo que refleja las diferencias en la efectividad de las pruebas para detectar fluidos seminales en situaciones forenses.

### **2.1.3. Antecedentes locales**

Salvatierra (2020), en su investigación titulada, “Efecto del tiempo y la temperatura sobre el antígeno prostático específico y las células espermáticas en manchas de telas de interés forense. Ayacucho, 2019”. Donde el objetivo fue evaluar el impacto

del lapso y el nivel térmico de las células espermáticas y el PSA. Utilizó 48 trozos de tela impregnados con esperma, los cuáles fueron incubados a dos temperaturas distintas: 37°C, 25° C, durante un periodo de 24 días. Las lecturas se realizaron cada 4 días; se usaron pruebas rápidas para detectar el PSA, para la observación de las células espermáticas mediante la coloración y la observación al microscopio óptico. Los resultados indicaron que, a una temperatura de 37°C, las células espermáticas se deterioraron a un ritmo acelerado en comparación con las muestras incubadas a 25 °C a medida que transcurría el tiempo.

## **2.2. MARCO CONCEPTUAL**

### **2.2.1. Medicina forense**

Es una línea de la medicina que está encaminada a asesorar en los tribunales mediante el desarrollo de pericias y estudios. Así pues, la Medicina Forense se refiere a la utilización del saber médico en el análisis y determinación de los sucesos en los juzgados (García, 2014).

### **2.2.2. Biología forense**

La biología forense es una de las ciencias auxiliares de la criminalística, donde el análisis de indicios biológicos recolectadas en el lugar de los hechos resulta de importancia para la identificación de los sospechosos (Reyes *et al.*, 2016).

### **2.2.3. Espermatología forense**

Es una disciplina de las ciencias biológicas forenses que busca el análisis e identificación de los elementos del esperma, basada en el uso de métodos especializados para la pericia forense. Contribuyendo con datos exactos, para vincular las pruebas de las víctimas y los victimarios, en los crímenes de agresión (Salvatierra, 2020).

### **2.2.4. Técnicas para determinar la presencia de semen**

### **2.2.5. Pruebas de orientación**

Son técnicas utilizadas para descubrir el rastro entre las vestimentas de la víctima, en espacios extensos como sábanas, cojines o residuos sospechosos recogidos del sitio de los eventos. La finalidad de un examen de orientación no es necesariamente comprobar la existencia de esperma, sino más bien descartar su presencia en una mancha que pueda estar en duda (Reyes *et al.*, 2016).

### **2.2.6. Mancha seminal**

Se refiere a los residuos de esperma que se encuentra sobre cualquier soporte firme, de gran importancia en el ámbito criminal, particularmente en crímenes

sexuales. El reconocimiento es fácil en recientes residuos seminales, pero se dificulta con el transcurso del tiempo (Salvatierra, 2020).

#### **2.2.7. Fluido seminal**

El fluido producido por la próstata y otras glándulas sexuales contribuye a llevar el espermatozoide fuera del organismo del hombre durante el momento del orgasmo. El espermatozoide o semen se compone de células, aminoácidos, azúcares, sales, iones y otras sustancias orgánicas e inorgánicas (Ponce, 2021).

#### **2.2.8. Antígeno prostático específico (PSA)**

Es la proteína glucosa-ácido generada por las células del sistema prostático. Si bien principalmente se localiza en la próstata, también puede ser hallado en otros tejidos y fluidos del cuerpo, como el líquido amniótico. Se emplea como indicador clínico en el diagnóstico y monitoreo del cáncer de próstata (Tarco, 2023).

#### **2.2.9. Fosfatasa ácida (FAP)**

Es un tipo de fosfomonoesterasa no especificado, generada en grandes volúmenes por la glándula prostática. Aunque se halla principalmente en la próstata, también está presente en otros órganos y fluidos del cuerpo, destacando su abundancia en el líquido seminal (Zagal, 2016).

#### **2.2.10. Espermatozoide**

Las células sexuales masculinas, conocidas como espermatozoides, contienen el material genético del individuo. Son tan pequeños que no se pueden apreciar con la vista directa y necesitan de un microscopio para ser observados. En los testículos, los espermatozoides presentan una movilidad limitada o inexistente y no tienen la habilidad de fertilizar un óvulo. No obstante, recuperan su funcionalidad completa tras traspasar el epidídimo, en el que concluye el ciclo de madurez (Ponce, 2021).

#### **2.2.11. Precisión**

La precisión es el nivel de proporción de los hallazgos encontrados en una medición o experimento, cuando se repite el proceso en condiciones idénticas (Prieto, 2012).

#### **2.2.12. Exactitud**

Se define como la cercanía entre el valor que se ha medido y el valor real del que se está midiendo (Prieto, 2012).

#### **2.2.13. Sensibilidad**

Se refiere a la cantidad de personas discretamente identificadas con la condición o enfermedad mediante el examen diagnóstico (Bravo y Cruz, 2015).

#### **2.2.14. Especificidad**

Se refiere a la tasa de falso-positivo correctamente detectados por el examen, del total de personas sanas de acuerdo a los parámetros estándar (Bravo y Cruz, 2015).

#### **2.2.15. Concentración**

Se conoce como concentración de una solución a la correlación entre la cantidad total de la solución y la suma de soluto disuelta. También se puede plantear la concentración en relación con la cantidad de disolvente utilizado, aunque esto es menos habitual (Fernández, 2022).

### **2.3. FUNDAMENTO TEÓRICO**

#### **2.3.1. Espermatología forense**

Disciplina de la ciencia biológica forense dedicada al análisis del semen o esperma, con el propósito de recolectar datos que contribuyan a la clarificación del proceso de investigación en situaciones vinculadas a crímenes sexuales. Incluye pruebas para identificar restos seminales a partir de muestras recolectadas de cavidades vaginales (secreción vaginal), rectales, bucales, superficies corporales y genitales masculinos (hisopado balano-prepucial), además de muestras sujetas a investigación (Policía Nacional del Perú, 2012).

#### **2.3.2. Fluido seminal**

El esperma, también conocido como semen, es un fluido orgánico exclusivamente producido por hombres (todos los mamíferos machos lo generan). Durante la eyaculación, el esperma es liberado al exterior, lo que coincide con el orgasmo. Millones de células reproductivas masculinas (esperma) se encuentran en el esperma. El esperma recién liberado es un líquido viscoso, suave, de tonalidad opalino, que a medida que transcurre el tiempo, y con un aroma característico. La opalescencia se relaciona directamente con la cantidad de esperma. Coagula justo después de la polución y posteriormente se licua (Fuentes, 2022).

#### **2.3.3. Formación del fluido seminal**

Inicia su desarrollo en los túbulos espermáticos de los testículos, lugar en el que también se generan los espermatozoides. Se mantienen en el epidídimo, donde se desarrollan y son llevados a las vesículas seminales por los conductos deferentes. Luego, pasan por la próstata y se combinan con el líquido prostático. Finalmente,



traspasa las glándulas de Cowper & Littré, las cuales liberan un líquido resbaloso que favorece la movilidad y la defensa del esperma (Márquez, 2019).

#### **2.3.4. Composición del fluido seminal**

El esperma se forma principalmente a través de la mucosidad de las glándulas sexuales adyacentes, aunque una proporción reducido de 2 a 3% corresponde a espermatozoides. Entre el 46% y el 80% de este fluido es generado por las vesículas seminales, entre el 13% y el 33% por la glándula prostática, cerca del 5% proviene de los testículos y el epidídimo, y entre el 2% y el 5% proviene de las glándulas uretrales y el bulbo uretral. El esperma está formado principalmente por sustancias como ácido cítrico, azúcares (como fructosa), proteínas (como el fibrinógeno) y diferentes enzimas (como la fosfatasa ácida y la lisozima). También contiene otras sustancias como fosforilcolina, carnitina, algunas sustancias que ayudan a descomponer otros compuestos y zinc (Herman *et al.*, 2015).

#### **2.3.5. Células espermáticas**

En promedio, el esperma posee un volumen de cerca de 3,5 mL, de los cuales aproximadamente el 10% corresponde a los espermatozoides, mientras que el resto del porcentaje corresponde al plasma seminal. Estas células de esperma son el factor clave en la identificación del esperma. El espermatozoide consta de tres componentes: la cabeza, la sección intermedia o intercalar, y el flagelo o cola. Sin embargo, debido a diversos factores, en muchos casos el espermatozoide no se observa completos y en situaciones extremas, pueden estar ausentes en su totalidad (Fuentes, 2022).

#### **2.3.6. Importancia del fluido seminal en biología forense**

Uno de los aspectos clave al iniciar una investigación es determinar el tipo de delito involucrado. En situaciones de crímenes como la irrupción o el abuso sexual que requieren relación física entre el victimario y la víctima, ocurre la transmisión de sustancia biológica. El esperma es uno de los fluidos que se encuentran frecuentemente en la escena del delito, hay indicios de orientación y confirmación para reconocer este fluido. Por lo tanto, la biología forense es crucial para identificar al acusado de un delito a través de la comparación de ADN, células epiteliales, indicios, trazas, entre otros. Por lo tanto, es necesario realizar una adecuada recolección de muestras en el lugar de los sucesos, donde se puedan

examinar y recopilar pistas para remitir al laboratorio que realizara el análisis y determinación de quién es el responsable del acto criminal (Amaya *et al.*, 2015).

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

Varios elementos del entorno, tales como la humedad, la radiación, la temperatura, y entre otros que impactan de manera negativa en el espermatozoides. Un problema significativo que ocurre es que los individuos agredidos no se dirigen a la Unidad Médico Legal (UML), lo que repercute en el espécimen que puede esclarecer los sucesos (Salvatierra, 2020).

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

En tejidos absorbentes (ropa de cama e interior, pañuelos, tejidos de algodón común y papel de baño), presentan el fenómeno denominado mapa geográfico, caracterizado por ser anormales, de tonalidad gris, con cantos nítidos y adheridos a la tela. Sobre la piel, forman minúsculas películas luminosas de apariencia barnizada. En tejidos no absorbentes como la lana, terciopelo y nylon, generan escamas o membranas de luz, conocidas como caminata de caracol (Esquivias, 2018).

#### **2.3.9. Delitos de violación sexual**

Los crímenes de índole sexual, se caracterizan como eventos sexuales sin el consentimiento o intención de la víctima, en las que se emplea la fuerza para someterla y causar serias repercusiones físicas, psicológicas y del ambiente social en el que se despliega la afectada.

Los delitos sexuales constituyen un desafío en todas las clases sociales, a menudo las personas se resisten a denunciar, primero acuden a los centros médicos para curar sus lesiones y luego hacia el médico legista, etapa en la cual se examinan los fluidos seminales dejados por los agresores se van diluyendo (Herman *et al.*, 2015).

#### **2.3.10. Telas usadas en el campo forense**

En el área de la criminalística las telas que casi siempre llegan al laboratorio por delitos sexuales son de tipo algodón y sintético. Para realizar trabajos con fines de investigación se utilizan este tipo de telas para simular un caso de violación sexual. Las telas de algodón se encuentran en prácticamente todas las prendas

de vestir y ropa hogareña, debido a su capacidad de resistencia y absorción, en el ámbito criminalístico, puesto que, gran cantidad de las evidencias forenses se llevan a cabo sobre este tipo de tejido, siendo las más reportadas en los laboratorios. La tela de algodón es de origen vegetal, producida por un tipo de planta de género *Gossypium* (Montenegro, 2022).

### **2.3.11. Técnicas para la detección del semen**

#### **a. Pruebas orientativas**

Para examinar una prenda, la primera acción es examinarla con luminosidad ultravioleta, utilizando radiaciones para detectar el líquido o residuo seminal. Se puede observar fluorescencia directa, lo que facilita la identificación de los residuos para luego llevar a cabo los estudios (Policía Nacional del Perú, 2012).

#### **b. Pruebas de certeza**

##### **b.1. Métodos microscópicos**

Es un procedimiento generalmente es el más usado y fiable, proporciona la seguridad de que se han identificado esperma y es un veredicto ineludible de la existencia de esperma. Principalmente, se hallan fragmentos de esperma, cuerpos o colas debido a que la contaminación por esporas o bacterias tiene un gran impacto (Quispe et al., 2009).

##### **b.2. Pruebas bioquímicas para el estudio del semen**

Existen varios procedimientos en la división clínico forense, enfocados en la interacción bioquímica del sistema inmunológico (Policía Nacional del Perú ,2012).

###### **b.2.1. Fosfatasa ácida prostática (FAP)**

Es una enzima abundante en el esperma y generada principalmente por la glándula prostática. Cuando se combina con una determinada sustancia química, provoca una reacción cromática al descomponer los grupos fosfato de otras moléculas, cambiando su color. El esperma tiene una concentración de esta enzima entre 500 y 1000 veces superior a la de otros fluidos corporales. Además, hasta 72 horas después de la actividad sexual, la fosfatasa ácida seminal puede seguir presente en la vagina (Muñiz et al., 2023).

### **b.2.2. Antígeno prostático específico (PSA)**

Es una glicoproteína monocatenaria formada por 237 aminoácidos que contienen un 7% u 8% de carbohidratos (4,84% hexosa, 2,87% hexosamina, 0,25% ácido siálico), en una glicoproteína. Las concentraciones conocidas de PSA oscilan entre 0,2 y 5,5 millones de nanogramos por mililitro. Una de sus funciones principales es escindir proteolíticamente péptidos en los coloides del gel de esperma (como la proteína semenogelina 1 “Sg-I” y 2 “Sg-II” y la fibronectina), fluidificando así el gel de esperma y aumentando la motilidad del esperma en aproximadamente 20 minutos después de la eyaculación (Vargas, 2016).

### **b.2.3. Semenogelina I y II**

Producida en las vesículas seminales, la semenogelina es la proteína más abundante en el plasma seminal humano. Se presenta en dos variedades: Sg-I y Sg-II. Al crear un coágulo con el plasma seminal, impide principalmente la liberación precoz de los espermatozoides en el tracto vaginal durante la licuefacción del semen. Durante los primeros 20 minutos tras la eyaculación, el PSA descompone la semenogelina, lo que da lugar a la formación de  $\alpha$ -inhibina, inhibidor de la motilidad del plasma seminal y antígeno específico de las vesículas seminales (Muñiz *et al.*, 2023).

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Ubicación**

##### **3.1.1. Ámbito de estudio**

Este estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología Ambiental de la UNSCH, así como en el Laboratorio de Biología de la UML-II de Ayacucho, perteneciente al Ministerio de Público.

#### **3.2. Tipo de investigación**

##### **Aplicada**

Este estudio actuará como un antecedente para solucionar los desafíos que se perciben en la comunidad en relación a crímenes sexuales.

#### **3.3. Diseño de investigación**

##### **Cuasiexperimental**

Las telas ya se distribuían por grupo en función de los volúmenes de esperma, por lo que los grupos se encontraban completos antes de llevar a cabo cualquier tipo de experimentación. En los diseños cuasiexperimentales, los individuos no se asignan de manera aleatoria a los grupos ni se emparejan, sino que estos grupos ya se han formado previamente al experimento: son grupos completos (Hernández *et al.*, 2014).

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

Las actividades para llevar a cabo el estudio constaron de tres fases:

Durante la fase preanalítica, se elaboraron las telas de algodón con sus correspondientes medidas, se recogió la muestra de semen de donantes voluntarios, se impregnó el esperma en las telas y se almacenaron a temperatura

ambiente durante dos horas antes de guardarlos en sobres de papel Kraft durante 48 horas.

Durante la fase analítica, las muestras se recuperaron al cabo de 48 horas para realizar las pruebas de PSA, utilizando la inmunocromatografía en las pruebas rápidas, la prueba bioquímica de la fosfatasa ácida y el colorante violeta cristal para identificar los espermatozoides.

Por último, se anotaron los resultados de cada prueba y se realizó un análisis estadístico (Salvatierra, 2020).

### **3.4.1. Fase pre - analítica**

#### **Recolección**

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

- Se adquirieron 10 metros de tejido de algodón de tonalidad crema, con un grosor de 30/1 y una longitud de malla de 0,19 cm, ya que es la prenda más habitual en la UML II de Ayacucho.
- La tela se dividió en 232 pedazos con un área de 25 cm<sup>2</sup>.
- Los fragmentos de tejidos se conservaron en sobres de papel Kraft.

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

- Se seleccionaron a cuatro donantes voluntarios de la muestra de esperma, quienes debieron tener un buen estado físico y parecer sanos. Se les realizó un espermograma a estos individuos, concluyendo que presentaron un conteo de esperma con valores normales (normozoospermatozoides).
- Se recolectaron muestras de esperma a través de la masturbación, efectuada por cada participante en un entorno seguro y sin la intervención de algún estimulante, y se depositaron en frascos estériles de boca ancha y llevadas al Laboratorio de Microbiología Ambiental en un refrigerador a temperatura ambiente. El volumen de esperma aproximado de cada donador fue de 3,5 ml. Antes de la coordinación, se instruyó a los donantes a abstenerse de tener relaciones sexuales por un mínimo de tres días antes de la donación.

##### **Impregnación del fluido seminal en la tela**

Con base en las muestras de esperma, para el procesamiento se esperó 45 minutos para la licuefacción del líquido seminal, luego se procedió a impregnar volúmenes desde 1, 10, 20, 30, 40 µL, así sucesivamente hasta 200 µL de las muestras con una micropipeta autoajustable en el centro de los segmentos de tela, creando una mancha con un diámetro aproximado de 0,8 cm en su centro.

### **Almacenamiento**

Se secaron totalmente todos los fragmentos de algodón a temperatura ambiente durante 2 horas.

Una vez que el esperma se secó sobre un soporte de tela de algodón, se guardaron de manera individual en sobres de papel Kraft, cuidando de no dañarlas, envolverlas o realizar fricción, en particular la parte manchada. Luego, estos fueron depositados en sobres de tamaño A4, debidamente rotulados y almacenados por un periodo de 48 horas a temperatura ambiente.

#### **3.4.2. Fase analítica**

**a) Recuperación de la muestra de fluido seminal.** Para recuperar la muestra de fluido seminal, se cortó un pequeño trozo de 0,5 cm<sup>2</sup> del centro de la tela impregnada con esperma utilizando unas tijeras. Luego, este fragmento de tela se colocó en un tubo de ensayo con 1 mL de solución salina fisiológica y se dejó reposar durante 30 minutos. Durante este tiempo, se agitó el tubo cada 10 minutos con una varilla para facilitar la disolución del fluido. Después de los 30 minutos, se retiraron los fragmentos de tela del tubo, dejando la muestra preparada para su análisis.

**b) Determinación del antígeno prostático específico (PSA) mediante pruebas rápidas.** Una vez obtenida la muestra recuperada en el tubo de ensayo, se centrifugó a 2500 rpm durante 3 minutos, lo que permitió la separación del sedimento y el sobrenadante. Posteriormente, con una micropipeta autoajustable, se extrajeron 100 µL del sobrenadante y se colocaron en el recipiente del Kit de prueba rápida de PSA. La presencia de una línea morada en lugar de las líneas de control indicó si el resultado era reactivo o no.

**c) Determinación bioquímica para fosfatasa ácida.** A las telas impregnadas con esperma se adicionó el reactivo *phosphatase* ácida con la ayuda de una micropipeta, en cada porción de tela se observó la reacción producida entre 5 y 15 segundos, como lo estipula el inserto del Kit, observándose el viraje a un color violeta para cada concentración.

**d) Conteo de células espermáticas coloreadas con cristal violeta.** La mancha de esperma, que se maceró en el tubo de ensayo, fue centrifugada a 2500 rpm, después se decantó el sobrenadante y se extendió sobre una lámina portaobjetos a partir del sedimento. Luego, las láminas previamente secadas fueron pigmentadas con cristal violeta durante un minuto; después, se examinaron con un microscopio óptico con un objetivo de inmersión (100x). Se realizó el conteo de

células espermáticas en 5 campos microscópicos seleccionados de manera aleatoria.

#### **3.4.3. Fase post analítica**

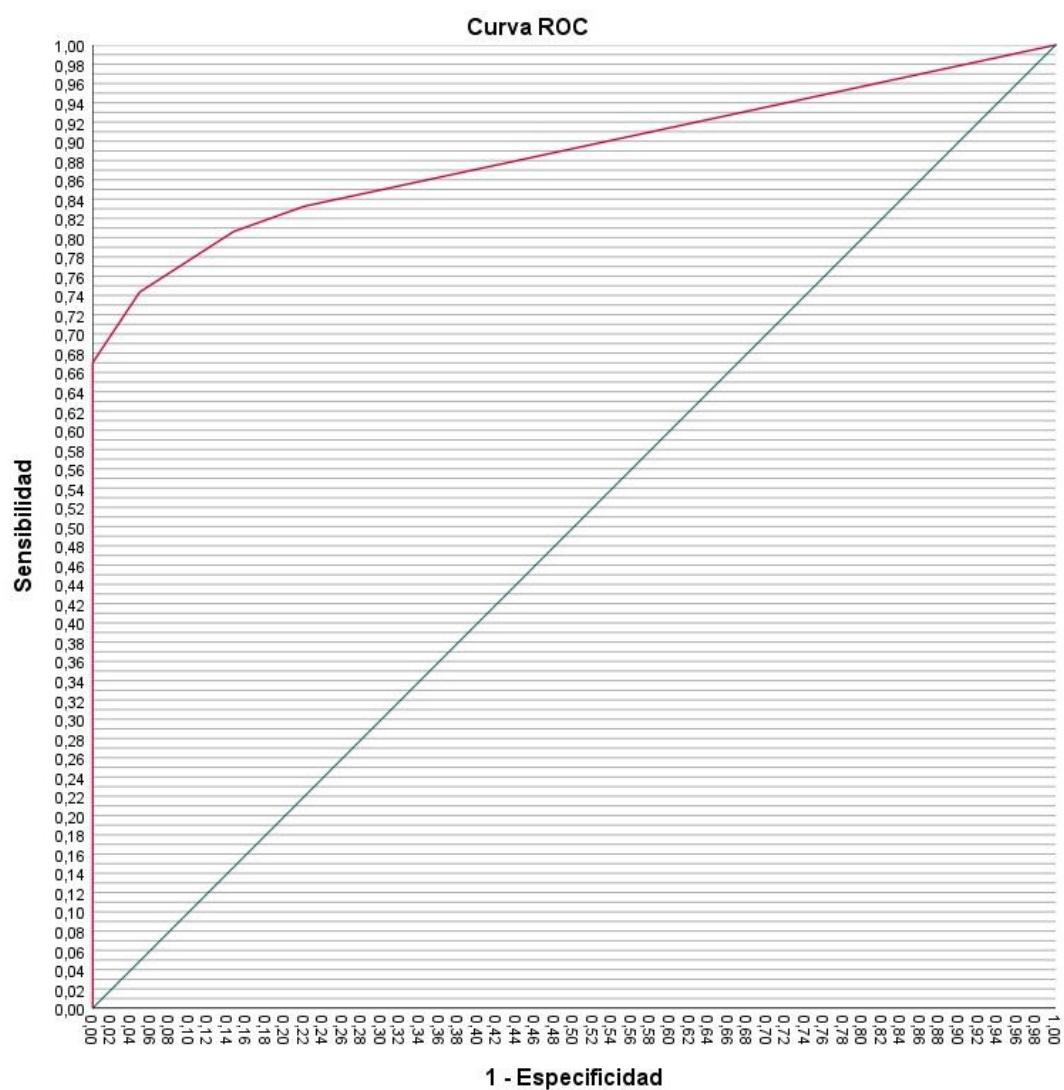
Se llevó a cabo el registro de los resultados de cada prueba y se realizó un análisis estadístico. aplicó el análisis de la curva ROC con el objetivo de establecer la precisión diagnóstica de los exámenes que emplean escalas continuas, con el objetivo de establecer el punto de corte donde se logra la mayor sensibilidad y especificidad, es decir, la concentración mínima de identificación de las pruebas forenses. Además, se examinó la sensibilidad (S) y especificidad (E) de cada una de las evidencias forenses para cada una de las evidencias forenses.



## **V. RESULTADOS**

**Tabla 1.** Coordenadas de la curva de característica operativa del receptor ROC para determinar la concentración mínima detectable por la prueba de certeza bioquímica de fosfatasa ácida en manchas secas de semen en telas de algodón.

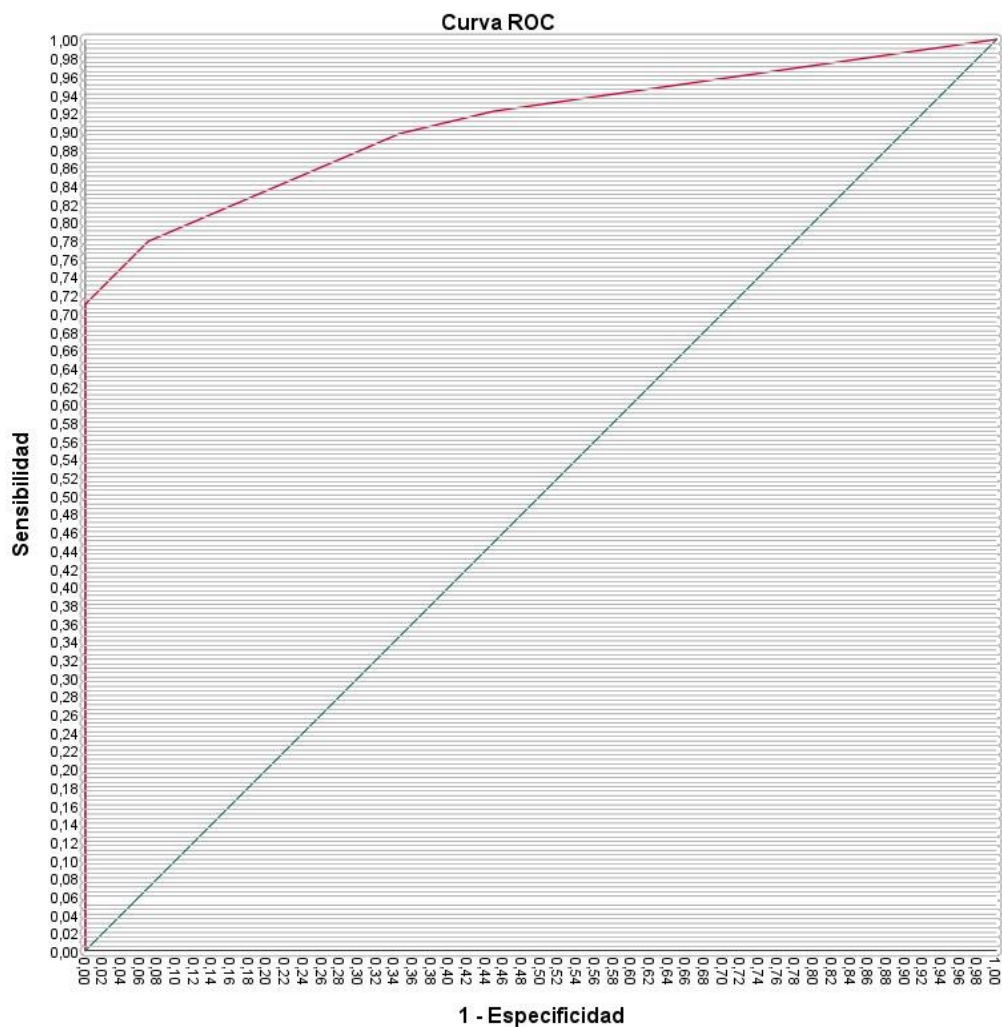
| Positivo si es mayor o igual<br>que | Sensibilidad | 1 – Especificidad |
|-------------------------------------|--------------|-------------------|
| 0,00                                | 1,000        | 1,000             |
| 1,50                                | 0,979        | 0,902             |
| 2,50                                | 0,958        | 0,805             |
| 3,50                                | 0,937        | 0,707             |
| 4,50                                | 0,916        | 0,610             |
| 5,50                                | 0,895        | 0,512             |
| 6,50                                | 0,874        | 0,415             |
| 7,50                                | 0,853        | 0,317             |
| 8,50                                | 0,832        | 0,220             |
| 9,50                                | 0,806        | 0,146             |
| 15,00                               | 0,775        | 0,098             |
| 25,00                               | 0,743        | 0,049             |
| 35,00                               | 0,707        | 0,024             |
| 45,00                               | 0,670        | 0,000             |
| 55,00                               | 0,628        | 0,000             |
| 65,00                               | 0,586        | 0,000             |
| 75,00                               | 0,545        | 0,000             |
| 85,00                               | 0,503        | 0,000             |
| 95,00                               | 0,461        | 0,000             |
| 105,00                              | 0,419        | 0,000             |
| 115,00                              | 0,377        | 0,000             |
| 125,00                              | 0,335        | 0,000             |
| 135,00                              | 0,293        | 0,000             |
| 145,00                              | 0,251        | 0,000             |
| 155,00                              | 0,209        | 0,000             |
| 165,00                              | 0,168        | 0,000             |
| 175,00                              | 0,126        | 0,000             |
| 185,00                              | 0,084        | 0,000             |
| 195,00                              | 0,042        | 0,000             |
| 201,00                              | 0,000        | 0,000             |



**Figura 1.** Curva de característica operativa del receptor (ROC) para determinar la concentración mínima de manchas secas de semen por la prueba de certeza bioquímica de fosfatasa ácida en telas de algodón. Ayacucho-2023.

**Tabla 2.** Coordenadas de la curva de característica operativa del receptor ROC para determinar la concentración mínima detectable por la prueba de antígeno prostático específico (PSA) en manchas secas de semen en telas de algodón. Ayacucho-2023.

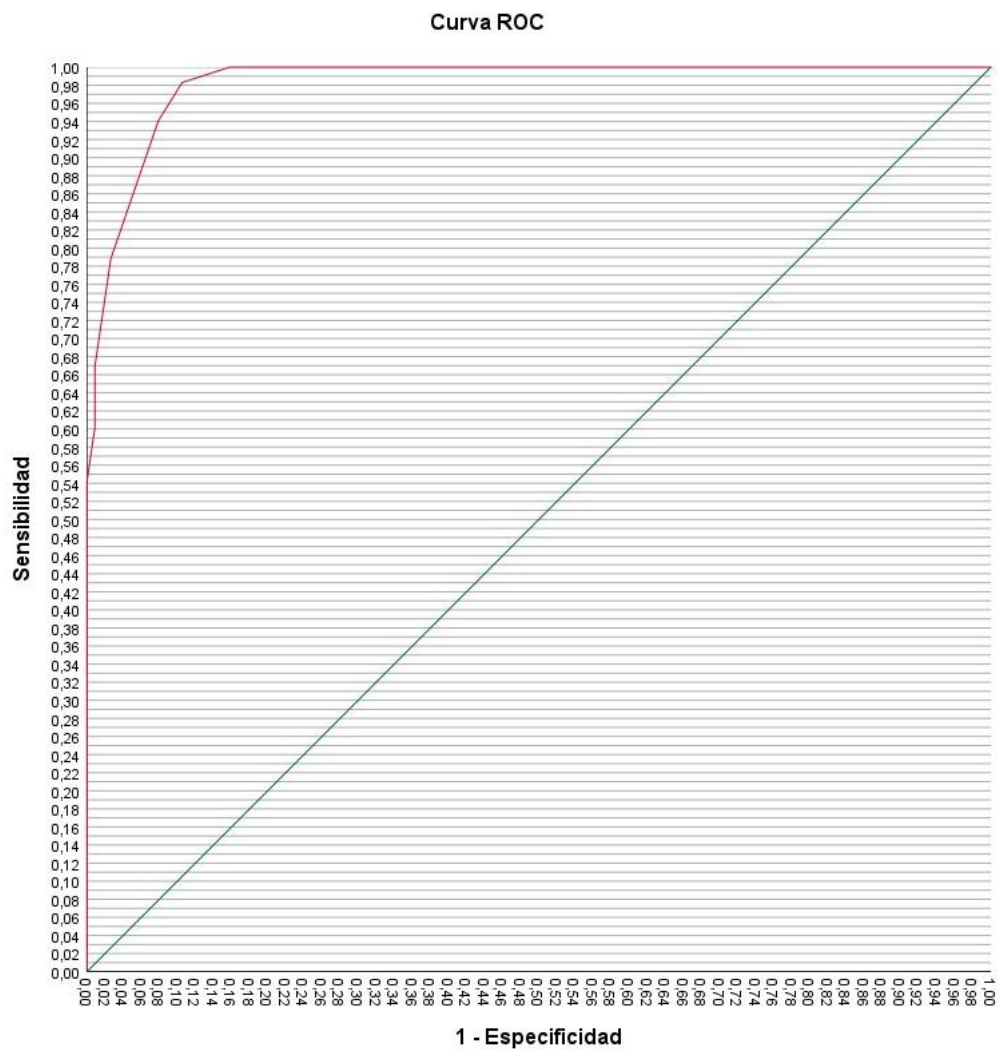
| Positivo si es mayor o igual que | Sensibilidad | 1 – Especificidad |
|----------------------------------|--------------|-------------------|
| 0,00                             | 1,000        | 1,000             |
| 1,50                             | 0,980        | 0,862             |
| 2,50                             | 0,961        | 0,724             |
| 3,50                             | 0,941        | 0,586             |
| 4,50                             | 0,921        | 0,448             |
| 5,50                             | 0,897        | 0,345             |
| 6,50                             | 0,867        | 0,276             |
| 7,50                             | 0,837        | 0,207             |
| 8,50                             | 0,808        | 0,138             |
| 9,50                             | 0,778        | 0,069             |
| 15,00                            | 0,744        | 0,034             |
| 25,00                            | 0,709        | 0,000             |
| 35,00                            | 0,670        | 0,000             |
| 45,00                            | 0,631        | 0,000             |
| 55,00                            | 0,591        | 0,000             |
| 65,00                            | 0,552        | 0,000             |
| 75,00                            | 0,512        | 0,000             |
| 85,00                            | 0,473        | 0,000             |
| 95,00                            | 0,433        | 0,000             |
| 105,00                           | 0,394        | 0,000             |
| 115,00                           | 0,355        | 0,000             |
| 125,00                           | 0,315        | 0,000             |
| 135,00                           | 0,276        | 0,000             |
| 145,00                           | 0,236        | 0,000             |
| 155,00                           | 0,197        | 0,000             |
| 165,00                           | 0,158        | 0,000             |
| 175,00                           | 0,118        | 0,000             |
| 185,00                           | 0,079        | 0,000             |
| 195,00                           | 0,039        | 0,000             |
| 201,00                           | 0,000        | 0,000             |



**Figura 2.** Curva de característica operativa del receptor (ROC) para determinar la concentración mínima detectable por la prueba de antígeno prostático específico en manchas secas de semen en telas de algodón. Ayacucho-2023.

**Tabla 3.** Coordenadas de la Curva de característica operativa del receptor (ROC) para determinar la mínima concentración detectable por la prueba de conteo de células espermáticas mediante el colorante cristal violeta en manchas secas de semen en telas de algodón. Ayacucho-2023.

| Positivo si es mayor o igual que | Sensibilidad | 1 – Especificidad |
|----------------------------------|--------------|-------------------|
| 0,00                             | 1,000        | 1,000             |
| 1,50                             | 1,000        | 0,930             |
| 2,50                             | 1,000        | 0,860             |
| 3,50                             | 1,000        | 0,789             |
| 4,50                             | 1,000        | 0,719             |
| 5,50                             | 1,000        | 0,649             |
| 6,50                             | 1,000        | 0,579             |
| 7,50                             | 1,000        | 0,509             |
| 8,50                             | 1,000        | 0,439             |
| 9,50                             | 1,000        | 0,368             |
| 15,00                            | 1,000        | 0,298             |
| 25,00                            | 1,000        | 0,228             |
| 35,00                            | 1,000        | 0,158             |
| 45,00                            | 0,983        | 0,105             |
| 55,00                            | 0,941        | 0,079             |
| 65,00                            | 0,890        | 0,061             |
| 75,00                            | 0,839        | 0,044             |
| 85,00                            | 0,788        | 0,026             |
| 95,00                            | 0,729        | 0,018             |
| 105,00                           | 0,669        | 0,009             |
| 115,00                           | 0,602        | 0,009             |
| 125,00                           | 0,542        | 0,000             |
| 135,00                           | 0,475        | 0,000             |
| 145,00                           | 0,407        | 0,000             |
| 155,00                           | 0,339        | 0,000             |
| 165,00                           | 0,271        | 0,000             |
| 175,00                           | 0,203        | 0,000             |
| 185,00                           | 0,136        | 0,000             |
| 195,00                           | 0,068        | 0,000             |
| 201,00                           | 0,000        | 0,000             |



**Figura 3.** Curva de característica operativa del receptor ROC para determinar la concentración mínima detectable por la prueba de conteo de células espermáticas mediante el colorante cristal violeta en manchas secas de semen en telas de algodón. Ayacucho-2023.

## V. DISCUSIÓN

La presente investigación nos permite comprender la importancia de conocer el volumen de secreción seminal mínima que debe estar presente en diferentes soportes, siendo determinante para la toma de decisiones; en este caso la presencia o ausencia de los analitos que estamos identificando como: fosfatasa ácida, PSA y células espermáticas.

Es así que al utilizar el estadístico de la curva ROC en la presente exploración se ha logrado establecer los puntos de corte y el rendimiento diagnóstico de las técnicas forenses que se trabajó. Asimismo, en base a los resultados de las técnicas forenses realizadas se logró determinar la mínima concentración de identificación de manchas secas de semen con técnicas forenses.

Es importante indicar que la mínima concentración de detección de las técnicas forenses fue obtenida a través del índice de Youden que es el valor que maximiza la sensibilidad y especificidad de la prueba diagnóstica, ayudando a elegir un punto de corte apropiado para poder clasificar el resultado como positivo o negativo. Como bien señala Vizcaíno (2017), quien indica que el índice de Youden identifica el punto de corte donde la sensibilidad y especificidad tienen valores altos conjuntamente para un mismo punto. Asimismo, cabe indicar que la curva ROC tiene su base de aceptación estadística en la determinación del valor del área bajo la curva, que se utiliza ampliamente para medir la precisión de las pruebas diagnósticas (Nahm, 2022).

La utilización del presente estadístico: curva ROC, es un pilar innovador en el estudio de las técnicas forenses lo que permite incrementar las características de estas técnicas forenses importantes en la impartición de justicia.

En la tabla que se encuentra el anexo 4, la técnica forense de fosfatasa ácida utilizada nos permitió determinar un 82,30% de positivos de 232 pruebas



realizadas, asimismo la sensibilidad obtenida fue de un 91% como se muestra en la tabla que se encuentra en el anexo 7, lo que se puede corroborar con la investigación de Tineo *et al.* (2021) quien obtuvo un 86,0% de sensibilidad para esta técnica.

La concentración mínima de identificación obtenida para la técnica forense fosfatasa ácida; fue de 25µL, como se indica en la tabla 1, lo cual representa un volumen considerablemente importante, y se obtuvo tras realizar la curva ROC y obtener el índice de Youden con un valor de 0,694 y un área bajo la curva de 0,885; indicado en la tabla que se encuentra en el anexo 1.

En cuanto al PSA, siendo este analito una proteína muy específica, se observó que puede sufrir algunas variaciones en cuanto a su concentración, como lo menciona González (2022), quien indica que pueden producirse falsos positivos debido a la presencia de sudor y orina en hombres, y puede ser mayor en hombres con cáncer prostático, mujeres con Síndrome de Down o bajo ciertos métodos anticonceptivos.

En la tabla que se encuentra en el anexo 5, los resultados del antígeno prostático nos indican que tiene un 87,50% de positivos de un total de 232 pruebas realizadas y una sensibilidad de 100% según los cálculos indicados en la tabla que se encuentra en el anexo 8. Este valor también se logra corroborar con Tineo *et al.* (2021), quien obtuvo una sensibilidad de 81,6% en la utilización del kit PSA.

En cuanto a la cantidad mínima detectable para el PSA; determinada con un índice de Youden de 0,710, se obtuvo un punto de corte de 15 µL, donde la sensibilidad es de 74% y un valor de falsos positivos de 3,4%; como se indica en la tabla 2 y un área bajo la curva de 0,906; indicado en la tabla que se encuentra en el anexo 2. Es importante indicar que este valor tiene relación con lo señalado por Zagal. (2016), quien señala que esta proteína tiene una concentración muy alta en el líquido seminal (820 000ng/ml), además que el kit es capaz de detectarla en bajas concentraciones por utilizar un Buffer en su procedimiento incluso hasta valores de 4ng. Zagal también señala a otros investigadores como Kristaly (1998) y Manfred *et al.* (1999), quienes utilizaron incluso diluciones 1:1000000, así como muestras de pacientes azoospermicos, combinaciones de fluidos como esperma – sangre, esperma – saliva, esperma – fluido vaginal y esperma – saliva – sangre, en las cuales se pudo obtener positividad en esta prueba.

En cuanto a la observación de las células espermáticas, existen investigaciones que indican que el tipo de soporte donde se deposita el líquido seminal afecta la concentración de células espermáticas, así como el tiempo de retraso que se puede tener para iniciar la técnica. Es así que Esquivias (2018) indica en su estudio que, en un soporte de algodón, hay una reducción en cuanto a la recuperación de células espermáticas por la técnica utilizada, debido a las propiedades y características absorbentes del algodón.

Teniendo en consideración esta aclaración, podemos mencionar que, en la tabla que se encuentra en el anexo 6, esta técnica presentó un 50.86% de positivos de un total de 232 pruebas realizadas; es decir, una cantidad relativamente baja, esto debido a lo señalado por Esquivias (2018), quien a su vez también cita a López indicando la misma observación. Sin embargo, y pese a estos valores, la sensibilidad de esta técnica, indicada en la tabla que se encuentra en el anexo 9, nos muestra un valor de 87% de sensibilidad.

Tras realizar el estadístico de la curva ROC con los valores obtenidos para esta técnica, se pudo determinar que presenta un AUC (área bajo la curva) de 0,983, como se indica en la tabla que se encuentra en el anexo 3, siendo este el valor más elevado de entre las técnicas utilizadas. Este valor, como señala Nahm (2022), se debe tener presente cuando es mayor de 0,500 puesto es significativo y si supera el valor de 0,800 es considerable aceptable según la tabla de baremos.

|                                 |           |
|---------------------------------|-----------|
| $0,900 \leq \text{AUC}$         | Excelente |
| $0,800 \leq \text{AUC} < 0,900$ | Bien      |
| $0,700 \leq \text{AUC} < 0,800$ | Justo     |
| $0,600 \leq \text{AUC} < 0,700$ | Pobre     |
| $0,500 \leq \text{AUC} < 0,600$ | Fallar    |

La cantidad mínima detectable para esta técnica fue de 45 $\mu$ L, obtenida a través de un índice de Youden de 0,878, el cual indica una sensibilidad de 98% con un 1% de falsos positivos; indicada en la tabla 3. Si bien este volumen es elevado en comparación con otras técnicas, esto podría deberse, como indica Esquivias (2018), la rapidez en la centrifugación es un factor esencial en la valoración final de las células espermáticas, dado que, si es alta, puede desgastar el espermatozoide, generando una falsa impresión positiva de espermatozoides incompletos.

Esto se explica porque el deterioro de la cola fue resultado de la fuerza centrífuga y no de un proceso de degradación.

Asimismo, las concentraciones de esperma de los donadores tienen un valor promedio de 71 637,500 que se encuentra dentro de los parámetros normales de 20 000,000 – 150 000,000 cel/mL y la motilidad, vitalidad que se encuentran dentro de los rangos estándares de la OMS y del laboratorio que realizó los exámenes, lo que nos asegura que las muestras utilizadas para las pruebas forenses representen un patrón típico de esperma y no se vean afectadas por posibles anomalías de las características del esperma. Si bien las muestras utilizadas en esta investigación presentaron valores normales, en el ámbito forense se podrían encontrar muestras de esperma de menor calidad, valores anormales y deterioradas, lo que podría afectar la precisión de la identificación de residuos secos de esperma; ya sea por el tiempo de exposición, condiciones ambientales o el manejo de evidencia. Para esto se recomienda usar una combinación de pruebas más sensibles y específicas para garantizar resultados confiables en todas las condiciones posibles.

## VI. CONCLUSIONES

1. La concentración mínima detectable de fosfatasa ácida en manchas secas de semen en soportes de tela de algodón; es de 25  $\mu\text{L}$ , con un área bajo la curva ROC de 0,885 y una sensibilidad de 74% y 4,9% de falsos positivos.
2. La concentración mínima detectable para el antígeno prostático en manchas secas de semen en soportes de tela de algodón fue de 15  $\mu\text{L}$ , con un valor del área bajo la curva ROC de 0,906, una sensibilidad de 74% y 3,4% de falsos positivos.
3. La concentración mínima detectable con la observación microscópica de células espermáticas en manchas secas de semen en soportes de tela de algodón fue de 45 $\mu\text{L}$ , con un área bajo curva ROC de 0,983, una sensibilidad de 98% y 1% de falsos positivos.

Estos resultados con AUCs son buenos y obtenidos con un índice de confianza estadístico de 95%, son de mucha importancia para los peritos forenses, pues amplían el conocimiento en cuanto al volumen mínimo de líquido seminal que se puede detectar en casos de violencia sexual.

## **VII. RECOMENDACIONES**

- Para finalizar este estudio, es necesario efectuar pruebas genéticas amplificando STR del cromosoma Y, particularmente en las muestras que mostraron PSA o fosfatasa ácida positiva, con el fin de establecer la sensibilidad y especificidad de ambos exámenes.
- Si se confirma un delito sexual que haya transcurrido más de 48 horas y se necesite identificar la presencia de fluidos seminales para atribuir al sospechoso, es necesario fusionar la búsqueda de esperma con la medición de fosfatasa ácida, PSA a niveles mínimos en un periodo superior a 48 horas. Por otro lado, se deben llevar a cabo exámenes de ADN para confirmar.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amaya Becerra, L. R., Barraza Rodríguez, E. M., & Pesca Polanco, W. A. (2015). Importancia de la biología en los delitos de acceso carnal violento. <https://repository.ugc.edu.co/handle/11396/4967>
- Bravo, S., y Cruz, J. P. (2015). Estudios de exactitud diagnóstica: Herramientas para su Interpretación. *Revista chilena de radiología*, 21(4), 158-164. <https://doi.org/10.4067/S0717-93082015000400007>
- Chinlle, T., y Geovanna, D. (2023). Métodos inmunológicos y de tinciones para la identificación de espermatozoides en muestras de delitos sexuales [bachiller, Tesis, Universidad Nacional de Chimborazo]. <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/11068>
- Cipriano, A., & López, H. (2020). Fundamento bioquímico de fosfatasa ácida prostática como prueba orientativa en el delito de violación. *Visión Criminológica-Criminalística*, 23(2), 6 [https://revista.cleu.edu.mx/new/descargas/2002/Articulo06\\_fundamento\\_bi\\_oquimico\\_fosfatasa\\_acida\\_prostatica.pdf](https://revista.cleu.edu.mx/new/descargas/2002/Articulo06_fundamento_bi_oquimico_fosfatasa_acida_prostatica.pdf).
- Esquivias, W. (2018). 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 de la Investigación Forense. Arequipa 2018 [Maestría, Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa]. <https://www.doccity.com/es/documento-documento-documento-6/5406938/>
- Fernández, H. (2022). *Unidad 3: Soluciones Introducción Teórica*. Escuela Superior de Comercio Carlos Pellegrini. [https://www.cpel.uba.ar/images/Unidad\\_3\\_teorico\\_y\\_ejercitacion\\_prof\\_hector\\_fernandez\\_dunne\\_3\\_a%C3%B1o.PDF](https://www.cpel.uba.ar/images/Unidad_3_teorico_y_ejercitacion_prof_hector_fernandez_dunne_3_a%C3%B1o.PDF).

- Fuentes, L. R. G. (2022). Identificación de vestigios de semen en casos de delitos sexuales y su importancia en la investigación forense en Panamá. *Revista Cathedra*, 17, Article 17. <https://doi.org/10.37594/cathedra.n17.666>
- García, I. (2014). Importancia de la Medicina Legal en la práctica médica. *Revista de la Facultad de Medicina (México)*, 57(5), 20-31 <https://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2014/un145d.pdf>.
- González, L. (2022). Identificación de vestigios de semen en casos de delitos sexuales y su importancia en la investigación forense en Panamá. *Revista Cathedra*, 17, Article 17. <https://doi.org/10.37594/cathedra.n17.666>
- Herman, T. T. D., Carola, J. V., & Ingrid, R. Q. (2015). Investigación de fluidos seminales con pruebas rápidas de antígeno prostático específico (PSA), fosfatasa ácida prostática (FAP) y microscopía, en muestras relacionadas con delitos sexuales.
- Hernández, R., Fernández, C., & Baptista, M. del P. (2014). Metodología de la Investigación (6taed.). Mc Graw Hill. <http://repositorio.ucsh.cl/bitstream/handle/ucsh/2792/metodologia-de-la-investigacion.pdf?sequence=1>
- Márquez Guzmán, C. J. (2019). Eficacia del antígeno prostático específico y la fosfatasa ácida en la detección de fluido seminal en prendas de vestir pertenecientes a mujeres víctimas de violación sexual en la División Médico Legal II Lima—Norte, año 2017 – 2018. Universidad Privada Norbert Wiener. <https://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/20.500.13053/3422>
- Montenegro Villegas, F. Y. (2022). Aplicación del reactivo fosfatasa acida de uso clínico para la determinación de presencia de fluido seminal con fines forenses en el laboratorio clínico H y D salud – 2021. Repositorio institucional-WIENER. <https://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/20.500.13053/6639>

- Muñiz, M., Lareu, H., De la Puente, V., Remedios, T., & Ramos, B. (2023). *Diferentes Metodologías de Utilidad en el Campo de la Genética Forense para la Identificación de Fluido Seminal*. 33, 16 *Boletín Galego de Medicina Legal E Forense*, 33, 63-78. <https://www.agmf.es/boletin.html>.
- Nahm, F. S. (2022). Receiver operating characteristic curve: Overview and practical use for clinicians. *Korean Journal of Anesthesiology*, 75(1), 25-36. <https://doi.org/10.4097/kja.21209>
- Peñafiel, C. y Tarco, D. (2023). *Métodos inmunológicos y de tinciones para la identificación de espermatozoides en muestras de delitos sexuales* [Tesis de grado, Universidad Ncional de Chimborazo]. <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/11068>.
- Policía Nacional del Perú (2012). Manual de Procedimientos Periciales Criminalística. Recuperado 5 de junio de 2023, de <https://img.lpderecho.pe/wp-content/uploads/2022/02/Manual-Procedimientos-Periciales-Criminalistica-2012-LPDerecho.pdf>
- Ponce, A. (2021). *Trabajo Académico realizado en el Laboratorio de Biología Forense-Unidad de Criminialística-Dirección de investigación Criminal de la Policia Nacional del Perú-Lima, sibre la detección de Resto seminal como Evidencia Criminalística durante 2017* [Segunda Especialidad]. Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa.
- Prieto, E. (2012). ¿ Sabías que Exactitud no es lo mismo que Precisión? *La revista Española de Metrología*, 2 <http://materias.df.uba.ar/f2qa2024c2/files/2022/03/exactitud-precision.pdf>.
- Quispe-Mayta, S. E., Tarifa Espinoza, S. G., & Solíz Pacheco, R. (2009). Pesquisa del fluido seminal en víctimas de violencia sexual por el laboratorio forense. *Revista Médica La Paz*, 15(1), 11-18 [http://www.scielo.org.bo/pdf/rmcmlp/v15n1/v15n1\\_a02.pdf](http://www.scielo.org.bo/pdf/rmcmlp/v15n1/v15n1_a02.pdf).



- Reyes, N. M. M., Esteban, N. V., & Leon, K. M. S. (2016). BIOLOGIA FORENSE: ANALISIS DE FLUIDOS. *Universidad La Gran Colombia*, 26.
- Salvatierra Sauñe, C. J. (2020). 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. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. <http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/4469>
- Tineo, D., Vargas, J., & Rosas, I. (2021). Investigación de fluidos seminales con pruebas rápidas de antígeno prostático específico (PSA), fosfatasa ácida prostática (FAP) y microscopía, en muestras relacionadas con delitos sexuales. Instituto de Medicina Legal-Ministerio Público del Perú, 8 [https://www.mpfm.gob.pe/escuela/contenido/actividades/docs/6559\\_investigacion\\_de\\_fluidos\\_seminales\\_con\\_\\_psa\\_y\\_fap\\_en\\_delitos\\_sexuales.pdf](https://www.mpfm.gob.pe/escuela/contenido/actividades/docs/6559_investigacion_de_fluidos_seminales_con__psa_y_fap_en_delitos_sexuales.pdf).
- Vargas, P. (2016). *Validación del Método de Detección de Antígeno Prostático Específico (PSA) por inmunocromatografía (ORGENICS) aplicado a líquido seminal presente en manchas secas y escobillones* [Pregrado, Pontificia Universidad Javeriana]. <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/55881/ANTIGENO.pdf?sequence=1>
- Vizcaíno, G. (2017). Importancia del cálculo de la sensibilidad, la especificidad y otros parámetros estadísticos en el uso de las pruebas de diagnóstico clínico y de laboratorio. *Medicina y Laboratorio*, 23(7-8), 365-386. <https://doi.org/10.36384/01232576.34>
- Zagal, O. (2016). Identificación de Fosfatasa Ácida, P30 y espermatozoides, recabadas en hisopos a distintas diluciones y tiempos de almacenamiento. [Pregrado, Benemerita Universidad Autonoma de Puebla]. <https://repositorioinstitucional.buap.mx/server/api/core/bitstreams/d5a6f7d7-ebbe-4460-b19b-8f6474352558/content>

## **ANEXOS**

**Anexo 1.** Área bajo la curva de característica operativa del receptor (ROC) para la prueba de certeza bioquímica de fosfatasa ácida en manchas secas de semen en telas de algodón. Ayacucho-2023.

| Área bajo la curva | Error de desviación | Significación asintótica. | 95% de intervalo de confianza asintótico |                 |
|--------------------|---------------------|---------------------------|------------------------------------------|-----------------|
|                    |                     |                           | Límite inferior                          | Límite superior |
| 0,885              | 0,021               | 0,000                     | 0,843                                    | 0,927           |

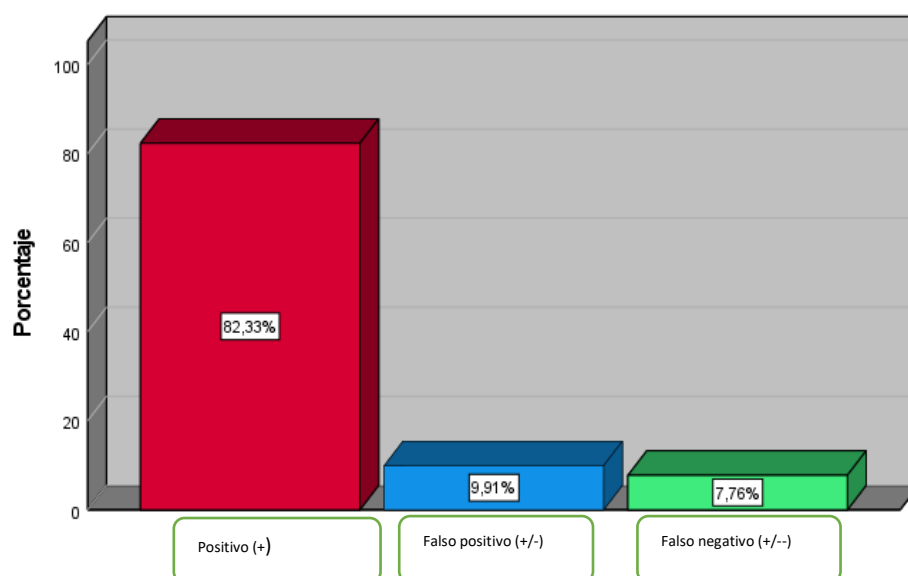
**Anexo 2.** Área bajo la curva de característica operativa del receptor (ROC) para la prueba antígeno prostático específico (PSA) en manchas secas de semen en telas de algodón. Ayacucho-2023.

| Área bajo la curva | Error de desviación | Significación asintótica. | 95% de intervalo de confianza asintótico |                 |
|--------------------|---------------------|---------------------------|------------------------------------------|-----------------|
|                    |                     |                           | Límite inferior                          | Límite superior |
| 0,906              | 0,020               | 0,000                     | 0,867                                    | 0,946           |

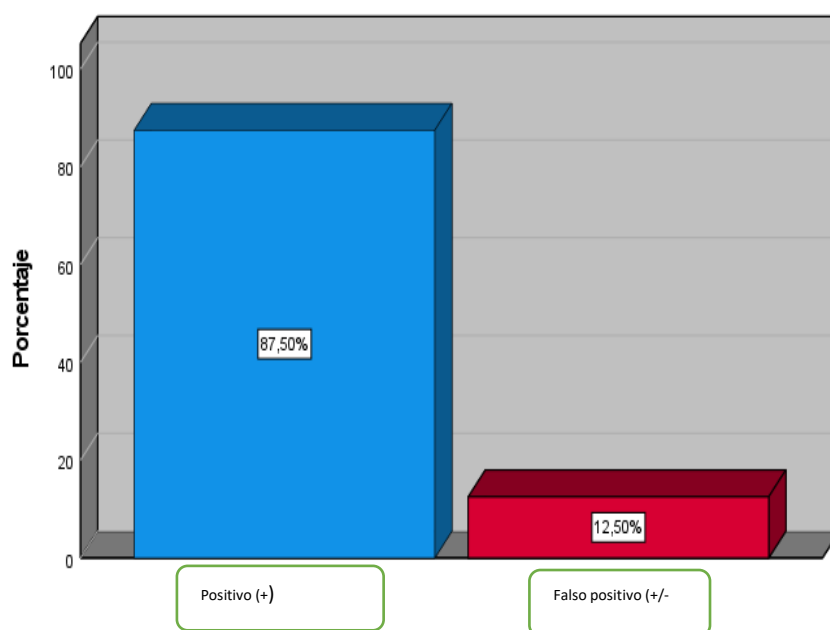
**Anexo 3.** Área bajo la curva de característica operativa del receptor (ROC) para la prueba de conteo de células espermáticas mediante el colorante cristal violeta en manchas secas de semen en telas de algodón. Ayacucho-2023.

| Área bajo la curva | Error de desviación | Significación asintótica. | 95% de intervalo de confianza asintótico |                 |
|--------------------|---------------------|---------------------------|------------------------------------------|-----------------|
|                    |                     |                           | Límite inferior                          | Límite superior |
| 0,983              | 0,006               | 0,000                     | 0,970                                    | 0,995           |

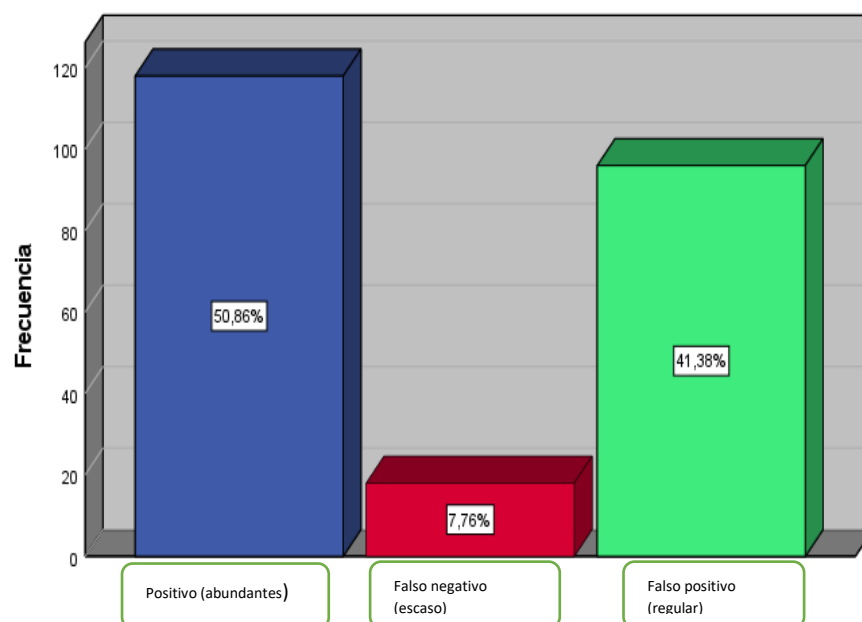
**Anexo 4.** Frecuencia de resultados obtenidos en la prueba de certeza bioquímica de fosfatasa ácida para el estudio de manchas secas de semen en la Unidad Médico Legal II. Ayacucho-2023.



**Anexo 5.** Frecuencia de resultados obtenidos en la prueba de antígeno prostático específico para el estudio de manchas secas de semen en la Unidad Médico Legal II. Ayacucho-2023.



**Anexo 6.** Frecuencia de resultados obtenidos en la prueba de certeza método microscópico para el estudio de manchas secas de semen en la Unidad Médico Legal II. Ayacucho-2023.





**Anexo 7.** Tabla de contingencia 2x2 de la prueba de certeza bioquímica de fosfatasa ácida para el estudio de manchas secas de semen en la Unidad Médico Legal II. Ayacucho-2023.

| Resultado       | Presencia de fosfatasa ácida | Ausencia de fosfatasa ácida | Total |
|-----------------|------------------------------|-----------------------------|-------|
| Prueba positiva | 191                          | 23                          | 214   |
| Prueba negativa | 18                           | 0                           | 18    |
| Total           | 209                          | 23                          | 232   |

| Cálculos                  | Resultados |
|---------------------------|------------|
| Sensibilidad              | 0,91       |
| Especificidad             | 0          |
| Valor predictivo positivo | 0,89       |
| Valor predictivo negativo | 0          |
| % de falsos negativos     | 99,09      |
| % de falsos positivos     | 100        |
| Exactitud                 | 0,82       |
| Cantidad(n)               | 232        |

**Anexo 8.** Tabla de contingencia 2x2 de la prueba de antígeno prostático específico para el estudio de manchas secas de semen en la Unidad Médico Legal II. Ayacucho-2023.

| Resultado       | Presencia de antígeno prostático | Ausencia de antígeno prostático | Total |
|-----------------|----------------------------------|---------------------------------|-------|
| Prueba positiva | 203                              | 29                              | 232   |
| Prueba negativa | 0                                | 0                               | 0     |
| Total           | 203                              | 29                              | 232   |

| Cálculos                  | Resultados |
|---------------------------|------------|
| Sensibilidad              | 1          |
| Especificidad             | 0          |
| Valor predictivo positivo | 0,88       |
| Valor predictivo negativo | 0          |
| % de falsos negativos     | 99         |
| % de falsos positivos     | 100        |
| Exactitud                 | 0,88       |
| Cantidad(n)               | 232        |

**Anexo 9.** Tabla de contingencia 2x2 de la prueba de certeza método microscópico para el estudio de manchas secas de semen en la Unidad Médico Legal II. Ayacucho-2023.

| Resultado       | Presencia de<br>espermatozoides | Ausencia de<br>espermatozoides | Total |
|-----------------|---------------------------------|--------------------------------|-------|
| Prueba positiva | 118                             | 96                             | 214   |
| Prueba negativa | 18                              | 0                              | 18    |
| Total           | 136                             | 96                             | 232   |

| Cálculos                  | Resultados |
|---------------------------|------------|
| Sensibilidad              | 0,87       |
| Especificidad             | 0          |
| Valor predictivo positivo | 0,55       |
| Valor predictivo negativo | 0          |
| % de falsos negativos     | 99,13      |
| % de falsos positivos     | 100        |
| Exactitud                 | 0,51       |
| Cantidad(n)               | 232        |

**Anexo 10.** Documento de autorización para el desarrollo de la investigación en la Unidad Médico Legal II.



MINISTERIO PÚBLICO  
REPÚBLICA DEL PERÚ

*Decenio de la igualdad de oportunidades para mujeres y hombres  
Año del Bicentenario de la consolidación de nuestra independencia, y de la  
conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho*  
UNIDAD MEDICO LEGAL II AYACUCHO

Ayacucho, 29 de Diciembre de 2023

**CARTA N° 25 -2024-MP-FN-UML-II-HUAMANGA**

Srta: FLOR KATHERINE TINEO MEDINA

**Asunto** : Aceptar ingreso al laboratorio de Biología Forense.

**Referencia** : Solicitud de Srta Flor K. Tineo Medina

**Expediente** : UML-II20230002354

Tengo el agrado de dirigirme a Usted, para saludarlo cordialmente en atención al asunto y al documento de la referencia, por medio del cual solicita ingreso al Laboratorio de Biología Forense de la Unidad Médico Legal II de Ayacucho, para realizar el trabajo de Investigación para obtener el Título de Biólogo; se le otorga el permiso de ingreso para el Laboratorio de Biología Forense durante el tiempo requerido.

Sin otro particular, hago propicia la ocasión para expresarle mi mayor consideración.

Atentamente,



**MANUEL GARCIA TRUYENQUE**  
JEFE DE LA UNIDAD MEDICO LEGAL II AYACUCHO

MGT/  
# 12-02

**Anexo 11. Consentimiento informado para los donadores voluntarios**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**

**CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Yo, Flor Katherine Tineo Medina, bachiller en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, estoy realizando una investigación cuyo título es **“Determinación de la concentración mínima de detección de manchas secas de semen con técnicas forenses, Ayacucho 2023”** que se estará ejecutando en el Laboratorio de Microbiología Ambiental y el Laboratorio de Biología del Instituto de Medicina Legal de Ayacucho por lo que le invitamos a participar voluntariamente en este estudio, el objetivo principal es identificar la concentración mínima de identificación de manchas secas de esperma con técnicas forenses y permitir de esta manera dar un alcance a los peritos expertos durante el análisis de los vestigios de esperma humano, dejados en la escena o en hisopados vaginales, anales, etc.

Si decide participar en este estudio, se iniciará con interrogantes sobre el tema que durarán alrededor de 5 minutos. Después, se le solicitará la donación de líquido seminal para llevar a cabo el Espermatograma (Es una prueba que determina la cantidad y calidad del esperma y de los espermatozoides) en una clínica privada que tenga valores normales de 20 000,000 - 150 000,000 cel/mL.

**Pasos a seguir para la obtención de la muestra seminal:** Se obtendrá la muestra mediante masturbación, realizada por cada voluntario en un frasco estéril. Los donadores no realizarán actividad sexual 3 días antes de la donación. Serán transportados al laboratorio de microbiología ambiental. Su identidad permanecerá reservada. Valoro su tiempo invertido y su amable colaboración. Su firma en este documento implica que ha optado por participar tras leer y debatir los datos contenidos en esta hoja de consentimiento:

Yo.....

con DNI N°.....

Declaro que mi implicación es voluntaria y que puedo abandonar mi participación cuando lo decida yo mismo. En señal de consentimiento, doy mi permiso para involucrarme en el estudio sobre conocimientos y actitudes acerca de la determinación de la concentración mínima de identificación de manchas secas en el esperma mediante métodos forenses, Ayacucho 2023.

Si desea más información sobre esta investigación o tenga otras dudas puede comunicarse con el investigador; Tineo Medina Flor Katherine al 941597981 email flor.tineo.02@unsch.edu.pe

Firma del investigador

Firma o huella del paciente

## Anexo 12. Resultados de los espermogramas realizados a los donadores



**IPRESS  
DEL PILAR**  
EMPRESA PRESTADORA DE SERVICIOS DE SALUD

Código: 36837  
Medico: .....  
Edad: 24

Nombres: DONADOR 1  
Fecha: Ayacucho, 20/Diciembre/2023

### ANALISIS: ESPERMATOGRAMA

**CONDICIONES DEL EXAMEN:**  
Método de obtención: Masturbación  
Abstinencia sexual: 3 días

#### EXAMEN MACROSCOPICO:

| PARAMETRO     | RESULTADO               | VALORES DE REFERENCIA   |
|---------------|-------------------------|-------------------------|
| Color:        | Gris Opalescente        | Blanco                  |
| Aspecto:      | Homogéneo - opalescente | Homogéneo - opalescente |
| pH:           | 8                       | 7.2 - 7.8               |
| Volumen       | 3.4 mL                  | ≥ 2mL                   |
| Licuefacción: | Completa                | <60min                  |
| Viscosidad:   | Normal                  | Normal                  |
| Debris:       | Ausente                 | Ausente                 |
| Aglutinación: | Presente                | Ausente                 |
| Filancia:     | 5 cm                    | ≤ 2cm                   |

#### EXAMEN MICROSCOPICO:

##### EXAMEN DIRECTO:

|                      |           |
|----------------------|-----------|
| Células Epiteliales: | 0-1 x/c   |
| Leucocitos:          | 20-25 x/c |
| Hematíes:            | 2-3 x/c   |
| Gérmenes:            | 1+        |

##### MORFOLOGÍA:

|                   |     |        |
|-------------------|-----|--------|
| Formas normales:  | 90% |        |
| Formas anormales: | 10% | > 30 % |

##### VITALIDAD:

|      |                             |
|------|-----------------------------|
| 85 % | ≥ 75% espermatozoides vivos |
|------|-----------------------------|

##### RECuento:

|                                        |             |                                 |
|----------------------------------------|-------------|---------------------------------|
| Concentración de espermatozoides:      | 67 300 000  | 20'000,000 – 150'000,000 cel/mL |
| Espermatozoides totales por eyaculado: | 228 820 000 | > 40'000,000 cel/eyaculado      |

##### MOTILIDAD:

|                          |     |        |
|--------------------------|-----|--------|
| Móviles Progresivos (%): | 85% | ≥ 50 % |
| No progresivos (%):      | 10% | ≥ 25 % |
| Inmóviles (%):           | 05% |        |

Atentamente,

EPSS DEL PILAR SAC.  
LABORATORIO  
Lc. Raul Anthony Delgado Chacacaya  
TECNÓLOGO MEDICO / C.T.M.P. 9571

DIRECCIÓN:  
URB. MARISCAL CACERES MZA. "C" LOTE 15  
AV. 26 DE ENERO N° 396

clinicadel Pilar

ADMISIÓN:  
Telf.: 066-286690  
Cel.: 913105142



# IPRESS DEL PILAR

EMPRESA PRESTADORA DE SERVICIOS DE SALUD

Código: 36848  
Medico:.....  
Edad: 27

Nombres: DONADOR 2  
Fecha: Ayacucho, 21/Diciembre/2023

## ANALISIS: ESPERMATOGRAMA

**CONDICIONES DEL EXAMEN:**  
Método de obtención: Masturbación  
Abstinencia sexual: 3 días

### EXAMEN MACROSCOPICO:

| PARAMETRO     | RESULTADO               | VALORES DE REFERENCIA   |
|---------------|-------------------------|-------------------------|
| Color:        | Blanco                  | Blanco                  |
| Aspecto:      | Homogéneo - opalescente | Homogéneo - opalescente |
| pH:           | 8.0                     | 7.2 - 7.8               |
| Volumen       | 3 mL                    | ≥ 2mL                   |
| Licuefacción: | Completa                | <60min                  |
| Viscosidad:   | Normal                  | Normal                  |
| Debris:       | Presente                | Ausente                 |
| Aglutinación: | Ausente                 | Ausente                 |
| Filancia:     | < 2 cm                  | ≤ 2cm                   |

### EXAMEN MICROSCOPICO:

#### EXAMEN DIRECTO:

|                      |           |
|----------------------|-----------|
| Células Epiteliales: | 0 - 1 x/c |
| Leucocitos:          | 4 - 6 x/c |
| Hematies:            | 0 - 1 x/c |
| Gérmenes:            | 1+        |

#### MORFOLOGÍA:

|                   |      |        |
|-------------------|------|--------|
| Formas normales:  | 85 % | > 30 % |
| Formas anormales: | 15 % |        |

#### VITALIDAD:

|      |                             |
|------|-----------------------------|
| 80 % | ≥ 75% espermatozoides vivos |
|------|-----------------------------|

#### RECuento:

|                                        |             |                                 |
|----------------------------------------|-------------|---------------------------------|
| Concentración de espermatozoides:      | 20 250 000  | 20'000,000 - 150'000,000 cel/mL |
| Espermatozoides totales por eyaculado: | 150 750 000 | > 40'000,000 cel/eyaculado      |

#### MOTILIDAD:

|                          |     |        |
|--------------------------|-----|--------|
| Móviles Progresivos (%): | 70% | ≥ 50 % |
| No progresivos (%):      | 20% | ≥ 25 % |
| Inmóviles (%):           | 10% |        |

Atentamente,

EPSS DEL PILAR SAC.  
LABORATORIO  
Lic. Raúl Anthony Uchuya Chacacape  
TECNÓLOGO MEDICO / C.T.M.P. 9571

DIRECCIÓN:  
URB. MARISCAL CACERES MZA. "C" LOTE 15  
AV. 26 DE ENERO N° 396

f clinicadelpilar

ADMISIÓN:  
Telf.: 066-286690  
Cel.: 913105142





# IPRESS DEL PILAR

EMPRESA PRESTADORA DE SERVICIOS DE SALUD

Código:-  
Medico: -

Nombres: DONADOR 3  
Fecha: Ayacucho, 14/Diciembre/2023

## ANALISIS: ESPERMATOGRAMA

### CONDICIONES DEL EXAMEN:

Método de obtención: Masturbación

Abstinencia sexual: 3 días

### EXAMEN MACROSCOPICO:

#### PARAMETRO

Color:

Aspecto:

pH:

Volumen

Licuefacción:

Viscosidad:

Debris:

Aglutinación:

Filancia:

#### RESULTADO

Blanco

Homogéneo - opalescente

7.2

1.9 mL

Completa

Normal

Ausente

Ausente

≤2 cm

#### VALORES DE REFERENCIA

Blanco

Homogéneo - opalescente

7.2 – 7.8

≥ 2mL

<60min

Normal

Ausente

Ausente

≤ 2cm

### EXAMEN MICROSCOPICO:

#### EXAMEN DIRECTO:

Células Epiteliales:

Leucocitos:

Hematíes:

Gérmenes:

0-1 x/c

6-8 x/c

0-1 x/c

1+

#### MORFOLOGÍA:

Formas normales:

Formas anormales:

70%

30%

> 30 %

#### VITALIDAD:

80 %

≥ 75% espermatozoides vivos

#### RECuento:

Concentración de espermatozoides:

Espermatozoides totales por eyaculado:

115 500 000

219 450 000

20'000,000 – 150'000,000 cel/mL

> 40'000,000 cel/eyaculado

#### MOTILIDAD:

Móviles Progresivos (%):

No progresivos (%):

Inmóviles (%):

60%

30%

10%

≥ 50 %

≥ 25 %

Atentamente,



EPSS DEL PILAR S.A.C.  
LABORATORIO

Lic. Raúl Anthony Uchuya Chacacape  
TECNÓLOGO MÉDICO / C.T.M.P. 9571

DIRECCIÓN:  
URB. MARISCAL CACERES MZA. "C" LOTE 15  
AV. 26 DE ENERO N° 396

clinicadel Pilar

ADMISIÓN:  
Telf.: 066-286690  
Cel.: 913105142





# IPRESS DEL PILAR

EMPRESA PRESTADORA DE SERVICIOS DE SALUD

Código: 36853  
Medico:.....  
Edad: 29

Nombres: DONADOR 4  
Fecha: Ayacucho, 22/Diciembre/2023

## ANALISIS: ESPERMATOGRAMA

**CONDICIONES DEL EXAMEN:**  
**Método de obtención:** Masturbación  
**Abstinencia sexual:** 7 días

### EXAMEN MACROSCOPICO:

| PARAMETRO     | RESULTADO               | VALORES DE REFERENCIA   |
|---------------|-------------------------|-------------------------|
| Color:        | Gris                    | Blanco                  |
| Aspecto:      | Homogéneo - opalescente | Homogéneo - opalescente |
| pH:           | 8.0                     | 7.2 - 7.8               |
| Volumen       | 1.6 mL                  | ≥ 2mL                   |
| Licuefacción: | Completa                | <60min                  |
| Viscosidad:   | Normal                  | Normal                  |
| Debris:       | Ausente                 | Ausente                 |
| Aglutinación: | Ausente                 | Ausente                 |
| Filancia:     | 3 cm                    | ≤ 2cm                   |

### EXAMEN MICROSCOPICO:

#### EXAMEN DIRECTO:

|                      |            |
|----------------------|------------|
| Células Epiteliales: | 1 - 2 x/c  |
| Leucocitos:          | 6 - 10 x/c |
| Hematíes:            | 0 - 2 x/c  |
| Gérmenes:            | 1+         |

#### MORFOLOGÍA:

|                   |      |        |
|-------------------|------|--------|
| Formas normales:  | 85 % | > 30 % |
| Formas anormales: | 15 % |        |

#### VITALIDAD:

|      |                             |
|------|-----------------------------|
| 90 % | ≥ 75% espermatozoides vivos |
|------|-----------------------------|

#### RECuento:

|                                        |             |                                 |
|----------------------------------------|-------------|---------------------------------|
| Concentración de espermatozoides:      | 83 500 000  | 20'000,000 - 150'000,000 cel/mL |
| Espermatozoides totales por eyaculado: | 133 600 000 | > 40'000,000 cel/eyaculado      |

#### MOTILIDAD:

|                          |     |        |
|--------------------------|-----|--------|
| Móviles Progresivos (%): | 65% | ≥ 50 % |
| No progresivos (%):      | 30% | ≥ 25 % |
| Inmóviles (%):           | 5%  |        |

Atentamente,

EPSS DEL PILAR SAC.  
LABORATORIO  
Lic. Rany Anthony Uchuya Chacacaja  
TECNÓLOGO MÉDICO / C.T.M.P. 9571

**DIRECCIÓN:**  
URB. MARISCAL CACERES MZA. "C" LOTE 15  
AV. 26 DE ENERO N° 396

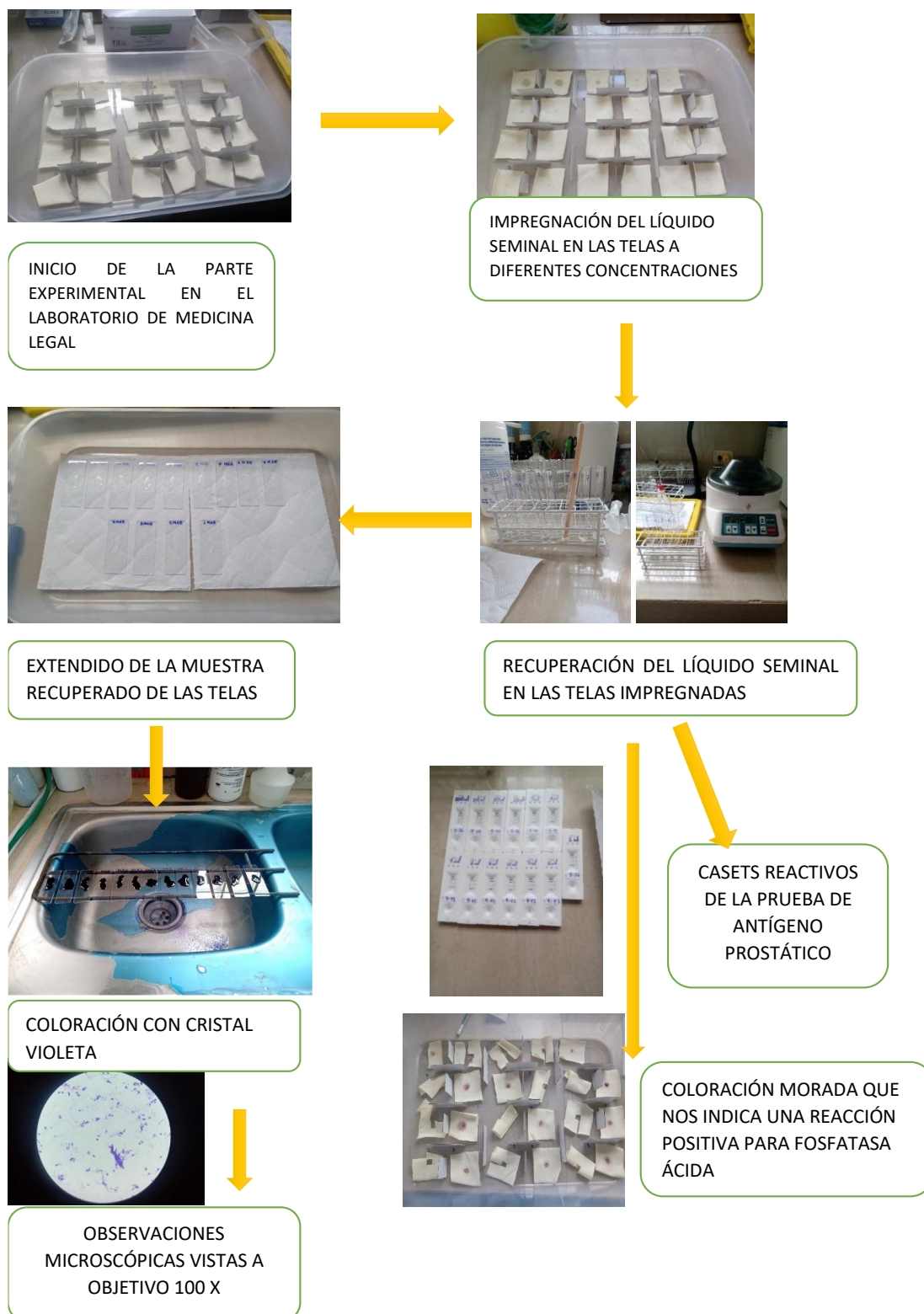
f clinicadelpilar

**ADMISIÓN:**  
Telf.: 066-286690  
Cel.: 913105142

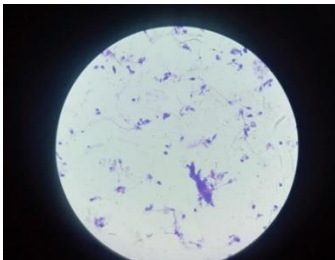
**Anexo 13.** Área de trabajo en el laboratorio de la Unidad Médico Legal II del Ministerio Público de Ayacucho



**Anexo 14.** Flujograma de trabajo en la Unidad Médico Legal II del Ministerio Público de Ayacucho



**Anexo 15.** Fotografías de los resultados obtenidos en la investigación.

|                                                                                                     |                                                                                   |                                                                                     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
|                    |  |  |
| <p><b>a.</b> Reacción positiva para la prueba de fosfatasa ácida mediante la coloración morada.</p> | <p><b>b.</b> Casets reactivos de la prueba del antígeno prostático</p>            | <p><b>c.</b> Observación microscópica con aumento de 100X</p>                       |

## Anexo 16. Matriz de consistencia

**TÍTULO: Determinación de la concentración mínima para la detección de manchas secas de semen con técnicas forenses, Ayacucho 2023.**

| TÍTULO                                                                                                                    | FORMULACIÓN DEL PROBLEMA                                                                  | OBJETIVOS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | MARCO TEÓRICO                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | HIPOTESIS                                                                                                          | VARIABLES E INDICADORES                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | DISEÑO METODOLÓGICO                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Determinación de la concentración mínima para la detección de manchas secas de semen con técnicas forenses, Ayacucho 2023 | ¿Las técnicas forenses detectarán manchas secas de semen menores a 200 µL, Ayacucho 2023? | <p><b>Objetivo General</b></p> <p>Identificar la concentración mínima para la detección de manchas secas de semen con técnicas forenses- Ayacucho 2023</p> <p><b>Objetivos Específicos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Determinar manchas secas de semen a concentraciones inferiores a 200 µL mediante la técnica de fosfatasa ácida.</li> <li>-Determinar manchas secas de semen a concentraciones inferiores a 200 µL mediante la técnica del antígeno prostático específico.</li> <li>-Determinar manchas secas de semen a concentraciones inferiores a 200 µL mediante la técnica de observación directa.</li> </ul> | <p><b>Antecedentes</b></p> <p>Internacionales</p> <p>Nacionales</p> <p>Locales</p> <p><b>Marco conceptual</b></p> <p><b>Fundamentos teóricos</b></p> <p>Espermatología forense</p> <p>Fluido seminal</p> <p>Importancia de la detección del fluido seminal en casos de violaciones</p> <p>Tipos de tela</p> <p>Técnicas para determinar el fluido seminal</p> | Al menos una de las técnicas forense detectará la concentración mínima de manchas secas de semen en Ayacucho 2023. | <p><b>Variable independiente</b></p> <p>Técnicas forenses:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Fosfatasa ácida</li> <li>-Antígeno Específico de la próstata (PSA)</li> <li>-Observación directa al microscopio</li> </ul> <p><b>Indicadores</b></p> <p>Precisión</p> <p>Sensibilidad</p> <p>Exactitud</p> <p>Especificidad</p> <p><b>Variable dependiente</b></p> <p>Manchas secas de semen a concentraciones inferiores a 200 µL</p> | <p><b>Diseño de investigación</b></p> <p>Cuasi-Experimental</p> <p><b>Tipo de investigación</b></p> <p>Aplicada</p> <p><b>Material biológico</b></p> <p>232 trozos de tela de 5 cm<sup>2</sup> impregnados con semen.</p> <p><b>Recolección de muestras</b></p> <p>Se conseguirá cuatro donadores voluntarios para la obtención de fluido seminal baja las normas establecidas y se proseguirá a realizar un espermatograma</p> <p><b>Etapas del trabajo</b></p> <p>Etapas pre analítica</p> <p>Etapas analítica</p> <p>Etapas post analítica</p> <p><b>Análisis estadístico</b> Se determinará la sensibilidad (S), especificidad (E) para cada una de las técnicas y se elaborará la curva de ROC.</p> |





**UNSCH**

FACULTAD DE  
CIENCIAS BIOLÓGICAS

**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS**  
**Bach. Flor Katherine TINEO MEDINA**  
**RESOLUCIÓN DECANAL N° 524-2024-UNSCH-FCB-D**

En la ciudad de Ayacucho, siendo las diez de la mañana del día miércoles cuatro de diciembre del año dos mil veinticuatro; se reunieron los miembros del Jurado Evaluador en el Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, participando como presidente encargado el Dr. Yuri Oliver Ayala Sulca con memorando N° 386-2024-UNSCH-FCB con fecha cuatro de diciembre del año dos mil veinticuatro, el Dr. Saúl Alonso Chuchón Martínez (miembro – jurado), Dra. Kusi Yaranga Palomino (miembro – jurado), Mg. Rilder Nemesio Gastelú Quispe (miembro – jurado), Mg. Ruth Elsa Huamán De La Cruz (miembro – asesor), actuando como secretario docente el Mg. Luis Uriel MOSCOSO GARCÍA; para presenciar la sustentación de tesis titulada: **Determinación de la concentración mínima para la detección de manchas secas de semen con técnicas forenses, Ayacucho 2023**, presentado por la Bach. Flor Katherine TINEO MEDINA; el presidente luego de verificar la documentación presentada, indicó al secretario docente dar lectura a la documentación generada que refrenda el presente acto académico, luego de ello dispuso el inicio del acto de sustentación, indicando a la sustentante que dispone de cuarenta y cinco minutos para exponer su trabajo de investigación tal como establece el Reglamento de Grados y Títulos de la Escuela Profesional de Biología de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Culminada la exposición, el presidente invitó a cada uno de los Miembros del Jurado a participar con sus observaciones, sugerencias y preguntas a la sustentante. Culminada esta etapa, el presidente invitó a la sustentante y al público asistente a abandonar momentáneamente el Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga para que los miembros del jurado evaluador puedan realizar las deliberaciones y calificaciones; cuyos resultados son los que se consignan a continuación:

| Miembros del Jurado Evaluador     | Exposición | Respuesta/preguntas | Promedio  |
|-----------------------------------|------------|---------------------|-----------|
| Dr. Saúl Alonso Chuchón Martínez  | 17         | 14                  | 16        |
| Dra. Kusi Yaranga Palomino        | 17         | 16                  | 17        |
| Mg. Rilder Nemesio Gastelú Quispe | 17         | 15                  | 16        |
| <b>PROMEDIO</b>                   |            |                     | <b>16</b> |

La sustentante alcanzó el promedio de 16 aprobatorio. Acto seguido, el presidente autorizó el ingreso de la sustentante y el público al Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga dando a conocer los resultados e indicando que de este modo se da por finalizado el presente acto académico, siendo las doce del mediodía con veinte minutos; firmando al pie del presente en señal de conformidad.

  
Dr. Yuri Oliver Ayala Sulca  
Presidente (e)

  
Dr. Saúl Alonso Chuchón Martínez  
Miembro - Jurado

  
Dra. Kusi Yaranga Palomino  
Miembro - Jurado

  
Mg. Rilder Nemesio Gastelú Quispe  
Miembro - Jurado

  
Mg. Ruth Elsa Huamán De La Cruz  
Miembro - asesor

  
Mg. Luis Uriel Moscoso García  
Secretario - docente



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

DECANATURA - ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE TESIS

Nº 101-2024-FCB-D

Yo, FIDEL RODOLFO MUJICA LENGUA, Director de la Escuela Profesional de Biología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; autoridad encargada de verificar la tesis titulada: **Determinación de la concentración mínima para la detección de manchas secas de semen con técnicas forenses, Ayacucho 2023**, por FLOR KATHERINE TINEO MEDINA; he constatado por medio del uso de la herramienta TURNITIN, procesado CON DEPÓSITO, una similitud de 5%, grado de coincidencia, menor a lo que determina la ausencia de plagio definido por el Reglamento de Originalidad de Trabajos de Investigación de la UNSCH, aprobado con Resolución del Consejo Universitario N° 039-2021-UNSCH-CU.

En consecuencia, la tesis cumple con las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Se acompaña el INFORME FINAL DE TURNITIN correspondiente.

Ayacucho, 31 de diciembre de 2024.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
Escuela Profesional de Biología

Dr. Fidel R. Mujica Lengua  
DIRECTOR

# Determinación de la concentración mínima para la detección de manchas secas de semen con técnicas forenses, Ayacucho 2023

*por Flor Katherine TINEO MEDINA*

---

**Fecha de entrega:** 30-dic-2024 06:50p.m. (UTC-0500)

**Identificador de la entrega:** 2558958365

**Nombre del archivo:** d\_TINEO\_MEDINA-\_Flor\_katherine-\_pregrado-\_2024\_TURNITIN\_PDF.pdf (660.84K)

**Total de palabras:** 7369

**Total de caracteres:** 37515



# Determinación de la concentración mínima para la detección de manchas secas de semen con técnicas forenses, Ayacucho 2023

## INFORME DE ORIGINALIDAD

5%

INDICE DE SIMILITUD

5%

FUENTES DE INTERNET

0%

PUBLICACIONES

1%

TRABAJS DEL  
ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

1

repositorio.unsch.edu.pe

Fuente de Internet

4%

2

Submitted to Universidad Nacional de San  
Cristóbal de Huamanga

Trabajo del estudiante

1%

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 30 words

Excluir bibliografía

Activo