

LA INVESTIGACIÓN LABORATORIAL EN LOS DELITOS SEXUALES

Dr Arema Dickerman Kraunick
Prof Dr Dennis A. Castro Bobadilla

Introducción

La incidencia de ataque sexual se ha incrementado dramáticamente en la última década, ó talvez estemos ante un mayor grado de conocimiento de hechos de naturaleza sexual, que antes no salían a la luz pública. Al mismo tiempo, las técnicas de laboratorio para analizar e interpretar evidencias se han venido a la sofisticación. Como resultado, el laboratorio ahora juega un importante rol en investigar los delitos sexuales, e identificamos ó eliminando sospechosos. Exponemos nuestro punto de vista sobre algunos de los métodos que se usan para la determinación de marcas, enzimas y tipo de marcadores genéticos.

Evidencias en casos de asalto sexual

Usualmente las investigaciones tratan de determinar tres puntos principales:

- 1) Contacto sexual;
- 2) Falta de consentimiento de la víctima; y
- 3) La identidad del asaltante.

Los análisis de laboratorio usualmente se enfocan hacia el primero y el tercero, aunque el segundo podría también ayudar de todos modos.

La violación es un crimen físico violento, durante el cual muchas clases de evidencia física podrían ser transferidas a la víctima ó al sospechoso, ó dejarlas en la escena del crimen. La evidencia física de la víctima es reconocida durante el examen físico, se incluye sangre, saliva, toallas sanitarias y secreciones vaginales, así como pelos del vello púbico.

Ropa, ropa de cama y otros artículos pueden ser recogidos por la policía de investigación criminal, así como muestras de semen, saliva, heces, ó manchas de sangre, deberán ser recogidas por personas con entrenamiento en éstos menesteres.- Éstas son a menudo, de más valor para examinar que las muestras biológicas recogidas durante el examen físico de la víctima, como por ejemplo, manchas de semen en el bloomer de la víctima que pueden contener más semen ó puede estar menos contaminado por los fluidos vaginales, que las toallas sanitarias. Analizando materiales extraños, cabellos, fibras, tierra, o mate-

rial de plantas, pueden también ser de gran ayuda en la reconstrucción del asalto sexual y para identificar al asaltante.- Viene a ni mente el caso de la joven Riccy Mabel Martinez Sevilla, quien fuera muerta a talvez de un golpe certero en la sien, con la piedra que mostrarnos en figura anexa.- En éste caso que fue de conmoción en el Estado de Honduras. tuvimos la oportunidad histórica, con circunstancias muy limitantes, el coleccionar evidencias, que inclusive hablaban de un asalto sexual masivo (más de tres), y en donde se evidenció que estuvimos desde el punto de vista forense, cercanos a los hechotes-Lástima la falta de decisión política para sufragar como nación las investigaciones laboratoriales forenses.

Esquema para analizar semen como evidencia

En la mayoría de los casos el laboratorio se enfoca más en analizar muestras de manchas y toallas sanitarias, el detectar semen provee evidencia de contacto sexual, y las marcas genéticas dan información acerca del asaltante, me refiero al D.N.A., que ya hicimos referencia en el capítulo de D.N.A en nuestro libro Compendio de Medicine Forense.

En las toallas sanitarias y las manchas en ropas usualmente contienen una cantidad limitada de material, es importante usar un punto de vista analítico, que extrae el máximo de información del material a mano.

La primera serie de exámenes, los cuales usan sólo la mitad de la toalla sanitaria, ó una porción de la mancha, que pudiese indicar la presencia y cantidad de semen. Si hay suficiente semen, debemos usar la otra mitad para las pruebas de genética del A.D.N.- El punto de referencia está en la estimación de la cantidad de semen en la toalla ó manchas de material, basado en un ensayo cuantitativo de ácido fosfatasa (ACP). Este resultado debe ser compatible con otras medidas de contenido de semen, tales como la densidad de los espermatozoides, y si una marca de discrepancia existe, debemos usar otro procedimiento cuantitativo, la prueba P30 de semen, como un significado de confirmación del contenido.

El estimado del mínimo contenido de semen también ayuda en dos de otros caminos: la interpretación de los resultados de los ensayos cualitativos para el grupo de sustancias de sangre A. B. O. Y para confirmar si una toalla sanitaria, ó bloomer, tiene suficiente semen para un tipeaje electroforético de marcadores de enzimas.- Las observaciones cualitativas entran dentro del cuadro también en el caso de que haya un alto contenido de microbios ó células blancas en una toalla sanitaria ó el mismo bloomer, por ejemplo, tenemos que interpretar esos resultados con cautela porque pudiésemos estar al frente de una enfermedad de transmisión sexual.

Técnicas analíticas

El líquido seminal es usualmente detectado al encontrar espermias en la evidencia.- Cuando la víctima está siendo examinada, el médico forense puede obtener una muestra de la secreción vaginal para una preparación de placas de película húmeda e inmediatamente examinarla en el microscopio para ver si hay motilidad de espermias. Estos frotis deben estar secos e incluidos en el conjunto de evidencias para ser enviados al laboratorio.



Fisura anal a la hora 6 del reloj. Víctima de abuso por vía anal.

Estas, las placas, deben ser coloreadas para examinarlas en el microscopio. El colore, puede demostrar las espermas y partes de las espermas que no pueden ser vistas en preparaciones frescas. El teñido rápido-nuclear, rojo-carmin, es superior para espermas(1), el teñir las cabezas en rojo y las colas en verde. El teñido de Papanicolau es también ,gran ayuda.

Las toallas sanitarias y las muestras obtenidas deben teñirse también para ver si espermas. Después de que las muestras se han extraído, los restos celulares pueden ser recogidos en la centrifugación, y así ser estudiadas.- La densidad de los espermas debe ser entonces evaluada cuantitativamente desde cero, hasta esperma visible en cada campo.² Otro material celular, tal como epitelio de la vagina, las células blancas propias de la sangre y microorganismos, deben ser estudiadas, porque ellos podrían indicar el grado de contaminación de la muestra. Si no hay espermas, el laboratorio podría hacer pruebas

para otros constituyentes seminales, tales como fosfatasa acida^{3,4}, colina⁵, espermina⁶ y proteína del semen p30^{7,8}.

El ensayo de detección de fosfatasa acida, es la mejor técnica establecida para detectar semen. Esta enzima segregada por la próstata, es encontrada en las más altas concentraciones en el fluido seminal, que en cualquier otra parte del cuerpo. Aunque los métodos han mejorado, la determinación del origen de la fosfatasa ácida, es aún difícil de distinguir, esto es: la fosfatasa ácida de origen prostático del encontrado en los fluidos vaginales propios de la mujer. La única diferencia significativa entre el fluido vaginal y el fluido seminal en relación a la fosfatasa ácida está en la movilidad electroforética⁹. Hay evidencia que esto es causado por diferencias en límite de carbohidratos que en secuencia alterada de proteínas^{9,10}, así que el análisis electroforético no necesariamente da resultados útiles.

Nosotros mejor confiamos primeramente en diferencias cuantitativas de enzimas.

Los niveles de actividad de la enzima fosfatasa ácida sin coito ó después del coito en fluidos vaginales han sido estadísticamente caracterizados, lo cual ha hecho posible definir umbrales que distinguen niveles endógenos femeninos, de niveles elevados de origen masculino 'I, usando ensayo con un substrato de nitrofenilfosfato (pH 5.5 a 25T) el nivel de actividad en toallas sanitarias libres de semen, es cerca de 0.025 unidades por compresa. Los niveles de actividad en otros fluidos son típicamente menores. Y, los análisis estadísticos de niveles de presencia de fosfatasa acida en toallas sanitarias, indican un 99% valor de umbral de cerca de 0.165 unidades por compresa y un 99.9% valor de cerca de 0.355 unidades por compresa sanitaria. Casos con actividad de enzimas más altos que estos umbrales son considerados como positivos de semen. Valores de la compresa sanitaria después del coito empiezan a caer debajo de esas cantidades tan temprano como de 3 a 6 horas después del coito, y para 12 a 15 horas, el 50% completo del valor de la compresa sanitaria, estarán por debajo del umbral. De ahí que un examen fosfatasa ácida positiva es bueno, pero una prueba negativa no lo es.

La prueba para la detección de la p30 es relativamente nueva^{7,8}.- La presencia de esta proteína en el plasma seminal es mayor a causa de que es una glicoproteína de ese origen, y que pesa cerca de 30,000 daltons, que es idéntica al antígeno de próstataespecífico, y que corrientemente viene siendo estudiado como un marcador de cáncer en la próstata

La proteína llamada p30 no ha sido encontrada en ninguna de las secreciones femeninas ó tejido humano en general, y es posiblemente una proteína específicamente masculina. Es detectada por una doble difusión de inmunoensayo⁷ o por una inmunoelectroforesis cruzada". Puede ser investigada cuantitativamente por electroforesis¹⁴ ó por ensayo inmunoabsorbente de enzimas encadenadas"

Es importante recordar que la ausencia de semen, no debe ser interpretada como evidencia de no asalto sexual.- El semen puede ser no encontrado, si han transcurrido más de 24 horas entre el asalto y la recolección de la evidencia en la vagina, o si el asaltante no eyaculó, esto ultimo es poco común entre los ofensores sexuales¹⁵, aunque a veces lo que

ha ocurrido es que la eyaculación fue sobre la piel de la víctima, lo que tratamos en un capítulo especial de éste libro.

La experiencia² indica que el semen puede no ser encontrado en algunos casos y que puede ser del 25% a 30% de los asaltos sexuales. Esto subraya la necesidad para que el médico forense observe otras evidencias mientras se examina la víctima, tal como ropa rasgada, arañones, y marcas de mordidas.

Evaluando el intervalo después del coito

El determinar cuando el coito ocurrió es precisamente impedido por la cantidad de semen en la vagina; lo mejor que se puede hacer en la mayoría de los casos es estimar un ancho intervalo del rango después del coito, veamos:

Encontrar espermias motiles indica un coito reciente, pero la ausencia de motilidad no significa nada. Los espermias pueden normalmente dejar de moverse en la vagina dentro de 30 minutos; y en un estudio controlado, sólo el 50% de muestras tomadas de la vagina y recogidas dentro de 3 horas después del coito mostró espermias motiles¹⁶.- El estimando de la densidad del esperma en frotis es también de valor limitado. Densidades muy altas son más compatibles con intervalos cortos que con los largos. Pero, las densidades moderadas son encontradas en la mayoría de los casos, y ellas pueden ser interpretadas en cualquier manera.



Contusión mas apergaminamiento de vulva. Signos de fácil confusión en abuso sexual.

Dermatitis para ectoparásitos. Enfermedad de transmisión sexual.

las espermias pueden sobrevivir en la vagina por cerca de 3 días y aún más en la cervix. por esto es importante encontrar o averiguar acerca del coito consensual hasta 72 horas antes del asalto.

Los niveles Fosfatasa Acida son sólo marginalmente más informativos en estimar intervalos, después del coito.

Tipeaje de marcadores genéticos

El tipeaje genético para determinar el grupo de sangre del asaltante, y el tipo de sangre, puede ser hecho, si hay suficiente semen en las muestras.

Aunque tal tipeaje no puede únicamente especificar a un individuo, restringe significativamente la población sospechosa, su valor es entonces exclusionista. Entre más definitivo es el perfil genético, mayor es la oportunidad de excluir falsos sospechosos, y más pequeña la población de posibles sospechosos. El semen contiene tres, marcas genéticas, a un nivel suficientemente alto para permitir tipeaje de rutina para buscar evidencia" ^{17 18}. Ellos son el ABO del grupo antígeno sanguíneo y los marcadores de enzimas peptidasa A (Pep A) y fosfoglucomutasa (PGM). Los tres pueden también aparecer a mas bajos niveles en secreciones originales. Como resultado, ejemplos de pruebas que contienen ambas; seminal y fluido vaginal, incluye el ejercicio de decidir cuál tipo de marcador genético puede originarse de la víctima, y cuál no. Esos que no son de la víctima, entonces se presume que son del asaltante. Estos tres marcadores son también expresados en la sangre. El tipo genético de las víctimas y sospechosos pueden ser establecidas por referencias de los tipeajes de las muestras de sangre.

Un alto porcentaje (80% a 85%) de la población segrega grupos de antígenos de sangre dentro de otros fluidos del cuerpo-, estas personas son conocidas como segregadores. El estado del segregador es establecido probando la saliva si es soluble de antígenos, o tipeando RBCs por antígenos Lewis¹⁹. Para probar si el antígeno es soluble de ABO, este es hecho en extractos libres de células, usando un ensayo semicualitativo de inhibición de aglutinación: los resultados son leídos microscópicamente, y los extractos libres de células son usados para impedir la interferencia de las células que llevan antígenos, tales como esas en las células epiteliales de la vagina o de microorganismos que pueden haber en la muestra.

Para interpretar los resultados de tipeaje de ABO depende de los antígenos encontrados, su título y el contenido estimado de semen en el extracto. Si los antígenos encontrados no son los de la víctima, y si su título es compatible con el contenido estimado de semen, se presume que son de origen seminal.

Más comúnmente, si no se encuentran antígenos extraños, se hace la interpretación más difícil, si los antígenos que concuerdan con los de la víctima son encontrados en los títulos excediendo grandemente el nivel del fluido vaginal normal, y si el contenido del semen es alto, entonces puede ser inferido que el donador de semen tiene el mismo de tipo de ABO de la víctima. Si nosotros no encontramos antígeno, y si el contenido de

semen es alto, entonces la fuente de un no segregador de semen, y es posible, finalmente, si el contenido de semen es bajo, podemos sacar la conclusión acerca del tipo de semen y no hacer exclusión genética. Interpretar estos resultados requiere experiencia en evaluación de niveles normales de substancia ABO en los fluidos de la vagina y semen. Los marcadores de enzimas PGM y Pep A, ocurren en el semen--sin importar el tipo ABO y estado de segregador, ambos son tipeados por electroforesis, y el tipo convencional muestra que ambos tienen tres fenotipos: 1. 2- 1, y 2.

El análisis electroforético extendido, subdivide aún más el PGM en 10 fenotipos. PGM es, genéticamente variable en todas las poblaciones pero las variantes, electroforéticas Pep A son comunes solo en los negros, así que su tipeaje es usualmente hecho sólo cuando el asaltante podría haber sido un negro.

Las actividades de PGM y Pep A disminuyen muy rápidamente en la vagina después del coito, resultados de PGM son raramente obtenidos de compresas sobre la vulva, recogidos en más de seis horas después del coito. Y Pep A no parece sobrevivir- más largo que 3 horas^{20,21}. Aún si las muestras son recogidas dentro de los intervalos, ellas pueden no contener suficiente semen para el tipeo de enzimas, evaluando el contenido de semen de la muestras se puede determinar si hay suficiente para el tipeo. Ambos marcadores son relativamente hábiles en especímenes preservados inapropiadamente, conteniendo mezclas de semen y fluidos vaginales. Estas consideraciones de nuevo resaltan lo crítico que es el recoger y preservar evidencia tan pronto como sea posible después del asalto.

Desde que los marcadores seminales permanecen en la vagina por sólo un corto tiempo, la evidencia más útil para el tipeo de genética es a menudo, el material colocado que estaba sobre el cuerpo de la víctima, vestidura o ropa de cama. Y porque el semen se drena rápidamente de la vagina, debe colorearse ese drenaje presente en los calzones, ya que tienen un alto contenido de semen igual que las toallas sanitarias colocadas sobre la vulva. Los calzones de la víctima tenían la más alta concentración de semen, y mostraron un subtipo de PGM extraño. Los calzones tenían menos semen y demostraron tanto el tipo extraño como el de ella. La compresa sanitaria vulvar contenía menos semen, y el tipo PGM era predominantemente de ella. Los títulos de antígeno ABO eran también más altos en los calzones y en las medias que en la compresa sanitaria.

El valor genético del perfil en investigaciones de ataques sexuales es considerable. Cada uno de los grupos de ABO está subdividido por los tres grupos de PGM independientemente inherentes para dar 12 combinaciones ABO-PGM, estos tipos de PGM se extienden a 40 combinaciones. Combinando el **tipo ABO y el subtipo de PGM** así permitiendo la diferenciación genética de un par de individuos escogidos al azar fue de un 90% de las veces.

Coordinando el personal médico y el personal de tina sala de Emergencia Hospitalaria El laboratorio tiene una responsabilidad primaria para trabajar con el apropiado personal médico y la sala de emergencia, para desarrollar protocolos acerca de la colección de evidencias. Estos debería de describir qué evidencias deben de ser recogidas, cómo deben de ser recogidas y como deberían de ser preservadas para el transporte hacia el laboratorio para su análisis.

el laboratorio debería también estar involucrado en entrenar al personal médico forense, y al personal médico de la sala de emergencia para tratar a las víctimas de violación y coleccionar evidencias.- Existen juegos preempacados listos para ser usados, y son a menudo usados, para facilitar su recolección, estos son excelentes, si ellos están sellados para mantenerlos libres de contaminación hasta que sean usados.

El, todos los especímenes deben de ser anotados la fecha, y la hora, y las iniciales del doctor, y también rotulados con el nombre del paciente. Idealmente los especímenes son enviados a tan poca gente como sea posible, preferiblemente llevado a mano personalmente y con el uso extensivo de recibido, para mantener una cadena de la evidencia, y debe ser custodiada desde el tiempo que es recolectada hasta el tiempo que va al juicio, porque si no, no sirve en los Tribunales de Justicia.- La naturaleza crítica de esta cadena de custodia no debe de ser pasada por alto.

Esfuerzos deben ser hechos para preservar la evidencia colectada. La degradación puede ser parada tiñendo o congelando el espécimen. Estudios de estabilidad en los laboratorios indican que la humedad de los especímenes es un factor crítico en la deterioración del marcador. La fig. 5 ilustra la pérdida de actividad del PGM bajo varias condiciones de almacenamiento de toallas sanitarias.~ La pérdida rápida de actividad de las enzimas en las toallas sanitarias mantenidas a la temperatura del medio ambiente es evidente. Los marcadores son estables cuando están secos, y cuando son congeladas secas las toallas sanitarias, mantienen su actividad de marcador por muchos meses.- Y porque el teñir las muestras obtenidas de compresas sanitarias y el colorearlas, no interfiere con la detección del semen ó el típico de ABO, lo recomendamos para preservar compresas sanitarias con manchas. El congelar puede ser conveniente, si deben ser transportados a cualquier distancia hacia un laboratorio forense.- En Estados Unidos de America, el fallar en preservar evidencia de violación adecuadamente puede resultar en que ello puede ser excluido de un juicio²².

Dictámenes en Los TRIBUNALES de Justicia.

El laboratorio le comunica sus resultados a los Médicos Forenses y éstos los Jueces, a través de reportes en calidad de Dictámenes cuando exista el nombramiento de Perito Médico Forense de acuerdo a la doctrina Procesal Penal. El reporte debe de ser tan completo e informativo como sea posible, y las afirmaciones inadecuadas deben evitarse, así como las sucesivas ó ambivalentes, ya que tienden a dejar interpretación caprichosa a las partes, y podría entonces ser fácilmente mal interpretada,

En un buen reporte se dá el significado de lo que se encontró en el contexto del caso, por ejemplo: reportando la ausencia de semen detectable en una compresa sanitaria vulvar, ó de muestras tomadas en la vagina, podría ser apropiado agregar que esto es compatible con:

- 1) falta de contacto sexual;
- 2) contacto sexual sin eyaculación dentro de la vagina ó

contacto sexual con pérdida de semen, entro el tiempo de contacto y la recolección de la evidencia.

La tercera posibilidad puede ser más evaluada en términos de intervalo postcoital alegado, y el conocimiento de la razón a la cual los componentes seminales son pérdidas de la vagina.

Similarmente si los tipos de compresa sanitarias son compatibles sólo con un sospechoso, el reporte debería de establecer que los tipos son atribuibles sólo al semen y no a las secreciones propias de la víctima. El reporte también debería de anotar la frecuencia con lo cual ese tipo ocurre en la población general. Una simple afirmación de compatibilidad sin calificación podría posible mente dirigirse a una identidad inferida equivocada. Si el analizador del laboratorio pudiera ser llamado a testificar, él o ella debería conocer lo que la evidencia dice, y lo que no dice, las respuestas incompletas pueden dar una errónea impresión de la evidencia, así que respuestas completas con la apropiada calidad son necesarias.

El laboratorio debe no sólo establecer una buena relación de trabajo con las unidades de investigación forense, sino también hacer presentaciones regulares a las asociaciones legales, para proveerles información acerca de las fuerzas, y limitaciones de las evidencias de ataque sexual.

Conclusión

Los laboratorios han hecho significantes avances en su habilidad para analizar e interpretar evidencia en casos de violación sexual. Particularmente notas valiosas es la contribución del tipeaje genético para identificar asaltantes. Para sacar lo más de este potencial, sin embargo el personal del laboratorio debe de involucrarse en varias de las facetas en manejar casos de asalto sexual que se relacionan en la recolección y uso de su evidencia, Esto incluye el desarrollo de protocolos de recolección de especímenes, el entrenamiento de personal de policía y de hospital, y aún educación del público. Tornando esta vista ancha el laboratorio puede hacer significantes contribuciones a las investigaciones, y procesar asaltantes.

Bibliografía Consultada:

1. Oppitz E. Eine neue Farbmethode zum Nachweis der Spermien M
Sittlichkeitsdelikten Arch *Kriminol* 1969: 144:145-148.
Willott GM, Allard JE: Spermatazoa-their persistence after sexual intercourse.
Forensic Sci Int 1982: 19:135-194
3. Kind SS: The acid phosphatase test. *Methods Ferensic Sci.* 1964; 4: 267-288.
Sensabaugb GF: The acid phosphatase test, in *Proceeding, on the
Analysis of Sexual Assault evidence.* Washington DC, US Government Printing
Office (in press).

5. Suzuki O. Matsumoto T. Oya M. et al: A new enzymatic method for the demonstration of spermine in human seminal stains. *J Forensic Sci.* 1981; 26: 420-415.
6. Suzuki O. Oya M. Katsumata Y. Et al: A new enzymatic method for the demonstration of spermine in human seminal stains. *J Forensic Sci.* 1980; 25:99-102.
7. Sensabaugh GF: Isolation and characterization of a semen specific protein from human seminal plasma: a potential new marker for semen identification. *J Forensic Sci* 1978;23: 105-115
8. Baechtel FS: Immunological methods for seminal fluid identification - prostatic antigen, in Proceedings, Symposium on the analysis of sexual assault evidence. Washington DC. US. Government Printing Office (in press).
9. Sensabaugh GF: Isozymes in forensic science, in Rattazzi MC, Scandalios JG. Whitt GS (eds): *Isozymes: Current topics in biological and medical research* New York. Alan R. Liss, Inc. 1982, vol 6 pp247-282.
10. Toates P: The forensic identification of semen by isoelectric focusing of seminal acid phosphatase. *Forensic Sci Int* 1979; 14:191-214.
11. Sensabaugh GF: The quantitative acid phosphatase test. *J Forensic Sci* 1979;24:346-365.
12. Wang MC. Valenzuela LA. Murphey GP, et al: Purification of a human prostate specific antigen *Invest Urol* 1979; 17:159-163.
13. Graves HC. Sensabaugh GF. Blake ET: Postcoital detection of a male-specific semen protein by ELISA: Application to rape investigation. *N Engl J Med* 1985, 312, 338-343.
14. Rawlinson LE. Waxall BG: Sexual dysfunction during rape. *J Forensic Sci Soc* 1983;23:175.
15. Groth AN. Burgess AW: Sexual dysfunction during rape. *N Engl J Med* 1977;297:764-766.
16. Souless MR. Pollard AA, Brown KM. et al: The forensic evaluation of evidence in alleged rape. *A, J Obstet Gynecol* 1978; 130:142-147.
17. Blake ET. Sensabaugh GF: Genetic markers in semen: A review. *J Forensic Sci* 1976;21:784-796.
18. Blake ET, Sensabaugh GF: Genetic markers in semen 11: Quantitation of polymorphic proteins *J Forensic Sci* 1978;23:701-719.
19. Race RR, Sanger R: *Blood groups in man*, ed 5 Philadelphia, FA Davis Co. 1968.
20. Price CL Drivies A. Waxall BG, et al: The typing of phosphoglucomutase in vaginal material and semen. *J Forensic Sci Soc.* 1976; 16:29-42.
21. Parkin B: The evidential value of peptidase A as a semen typing system. *J Forensic Sci* 1981;26:398-404.
22. *People vs Nation* (1980) 26. Cal 3RD. 169.