

## Investigación de Delitos Sexuales Detección de Semen en la Piel

*Prof. Dr. Dennis A. Castro Bobadilla*

Los estudios de la incidencia nacional de delitos sexuales revela que aproximadamente un 5 % de los niños experimentarán alguna forma de abuso sexual en los años de su crecimiento (1). -Es estimado en el estudio en referencia que en Honduras, cerca del 45% de los niños envueltos en Delitos Sexuales tendrán contacto directo con los genitales del agresor sin que necesariamente ocurra la penetración peneana (1).-En éstos últimos casos pueden ocurrir que exista algún tipo de secreción en la piel de la víctima y que, estas secreciones tengan que ver con los componentes del semen lo que hará de vital importancia la detección de tales substancias en la piel de la víctima, principalmente si ésta está inconsciente, es un menor de edad, ó se trata de un cadáver en estudio.- Desafortunadamente, la sensibilidad para detectar- los componentes del semen en la piel son en forma individual como en forma colectiva desconocidos.

Estos test laboratoriales en los casos agudos de asaltos sexuales en los que como promedio no se exceda de 72 horas pos periodo agudo de agresión, deberán ser considerados en toda investigación Medico Forense.

Porque los niños generalmente son presentados a las oficinas forenses excepcionalmente en forma inmediata, y como promedio según el estudio en referencia (1) a los tres días del ataque sexual, es importante conocer como el tiempo que corre afecta los resultados que pudiesen obtenerse a través de los estudios laboratoriales (2).

Es de importancia capital que los médicos clínicos y muy especialmente los Médicos Especialistas en Medicina Forense entiendan claramente las limitaciones en aspectos diagnósticos de naturaleza laboratorial en los casos en los que exista historia de abuso sexual.

El presente estudio fue encaminado a valorar las diferentes vías laboratoriales de carácter diagnóstico que son de nuestro haber diario en la práctica médico forense, entre los cuales escogimos la oportunidad de someter a investigación la sensibilidad y especificidad de los resultados obtenidos con la lámpara de Wood (L.w.), así como también el conocer iguales características en cuatro técnicas diagnósticas usadas en la identificación del semen en la piel de las víctimas de abuso sexual.

La Lámpara de Wood (**LW**) que emite una luz ultravioleta en su funcionamiento, ha sido utilizada en la investigación de un asalto sexual, y crea una fluorescencia cuando detecta



*Abuso Sexual Anal en Menor. Examen en posición genupectoral: fisuras a las 11 y 1 de la carátula del reloj en esfínter anal.*

semen en piel aún en casos de 72 horas de historia de evolución (3).- La detección de la fluorescencia del semen en la piel, es de especial ayuda en aquellos infantes en donde por sus propias características, el infante no tiene posibilidades de expresar lo ocurrido, aunque conozcamos que la L.W emite fluorescencia en estudios de piel debido a otras causas que no necesariamente son originarias del semen humano.- Lo anterior, se podrá conocer como falsos positivos, y siempre deberán ser considerados en los resultados; pero típicamente cuando se hace el estudio de semen en la piel de cualesquier víctima, exactamente de los sitios en donde se localice la fluorescencia, de esos puntos deberá tomarse la muestra para estudio y conocer si se trata de semen ó de los otros elementos que dan fluorescencia positiva(4).

Las otras tres técnicas forenses comúnmente utilizadas en el análisis de la evidencia seminal fueron también analizadas en el presente estudio, y fueron a saber :

**a)** Detección Microscópica de Espermatozoides, **b)** la presencia de Fosfatasa Ácida (F.A), **e)** la detección de Proteína Prostática Específica ó p30 a través del estudio de la inmunolectroforesis (**CIE**), aunque también se buscó las calidades de la detección de p30 a usando la técnica inmunoabsorbente (**ELISA**).- Estos test son variantes en su sensibilidad y especificidad.- Ahora, queda completamente claro que la detección de espermatozoides en cualesquier muestra de estudio es condición *sine qua non* de un contacto sexual (5).- La presencia de Fosfatasa Ácida, es menos específica de contacto sexual en vista de encontrarse normalmente en las secreciones propias de la mujer, tanto en la vagina como en las muestras de orina aunque sea en bajos niveles de unidades en comparación con las secreciones prostáticas que dan resultados en unidades de millones.(6,7).- No es del todo conocido si la Fosfatasa Ácida se encuentra presente en las secreciones vaginales y urinarias de la mujer en periodo de pubertad , ahora, si se sabe que está presente ya en bajos niveles en las secreciones prostáticas del varón adolescente (8).- Ahora, a la inversa un resultado negativo en relación a la presencia de Fosfatasa Ácida no necesariamente es de valor negativo a la presencia del semen (9).- La proteína prostática, p30 también llamada antígeno específico prostático, es encontrado en el fluido seminal y de orina del hombre, y bajo circunstancias normales, estará ausente de cualesquier otro líquido ó fluido corporal originado en el hombre y estará absolutamente ausente de cualesquier tejido ó líquido corporal humano de tipo femenino(10,11) La proteína prostática obtenida a través de la técnica ELISA, es por lo menos unas 100 veces más sensitiva que la Fosfatasa Ácida y la técnica de búsqueda de proteína prostática a través de los test de tecnología de inmunolectroforesis (**CIE**).

Nosotros nos hicimos las siguientes interrogantes en nuestro estudio.

1 ¿Cómo el patrón, color e intensidad de la fluorescencia de la L.W. al detectar semen cambia a través del tiempo?

2 ¿Las sustancias no seminales que pudieran estar presentes en la piel de un menor de edad, pueden causar falsos positivos?

3. ¿Cómo varía la sensibilidad a través del tiempo en las áreas de fluorescencia con la L.W. en la investigación al microscopio, y búsqueda de la fosfatasa ácida y, de la enzima p30?

4. Pueden los test laboratoriales forenses enunciados, el detectar semen en aquellos sitios en donde la lámpara de wood dio fluorescencia negativa ?

Obviamente, nosotros consideramos la oportunidad de hacer éste estudio, pero como es comprensible no pudimos realizarlo en menores de edad, entonces dispusimos solicitar la cooperación de estudiantes de la Facultad de Medicina, de la Universidad Nacional Autónoma de Honduras, quienes en el VI año de estudios llevan la clase de Medicina Forense, y a un grupo de ellos., le planteamos la necesidad de averiguar en nuestro país sobre las pruebas de detección de semen en piel, con la finalidad de obtener mejores

datos en la búsqueda de la verdad científica, admirablemente tuvimos su cooperación espontánea, para lo cual, les solicitamos una declaración personal por escrito sobre la admisibilidad de servir voluntariamente como sujeto de estudio.

## **Sujetos y Metodología. Test Preliminares.**

Los test preliminares fueron con la intención de proveer forma general el conocimiento sobre los efectos del tiempo y la localización corporal de la fluorescencia del semen estudiada a través de la lámpara de Wood.- Por consecuencia, en primer lugar, 11 observación del semen en la piel fue por 80 horas a través de dicha lámpara, observando que la fluorescencia empieza a decaer a las primeras 28 horas, tiempo éste que se empezó a utilizar como referencial

Seguidamente se observó que no había mayor diferencia en la fluorescencia originado sobre muestras de semen que estaban depositadas en los antebrazos, u en otro lugar corporal, por lo anterior, se decidió que el estudio debería realizarse en la espalda de los elementos seleccionados para el estudio final.

Los test preliminares también tenían como finalidad, el hacer la identificación plena de todas aquellas sustancias que por sus características propias, como por el uso común e menores de edad, pudiesen darnos una falsedad positiva a través de la observación con la lámpara de wood.- Dentro de las sustancias que fueron identificadas como elemento que ofrecen falsos positivos, con respecto a un estudio de la piel y con fluorescencia positiva similar a la que pudiésemos observar con la presencia de semen, incluyeron: la formulas lácteas, la leche entera, las colas, las lociones suavizantes, el petrolato (vaselina): las cremas de la marca Johnson & Johnson, y la orina.- La fluorescencia de éstas sustancias difieren obviamente en características de color, textura, patrón, etc, de la ocasionada por el semen- La orina y las formulas lácteas tienen características similares con respecto a la fluorescencia del semen.- Por otro lado, la fluorescencia de la orina persiste lo en observaciones preliminares, por un período de 80 horas.- Y, como la orina tiene la enorme posibilidad de estar presente en el área perineal de los niños, y la fluorescencia de orina perfectamente puede ser confundida con la originada por el semen, decidimos estudiar también las características de dichas fluorescencias, para conocer el potencial generador de falsedad positiva en las lecturas de fluorescencia con la lámpara de Wood.-

## **Sujetos y Colección de Muestras**

Once estudiantes de Medicina fueron seleccionados para éste estudio, en el año de 1998, y fueron informados todos sobre las características y objetivos del presente estudio, que se obtuvo el respectivo consentimiento informado de todos ellos.- De cada uno obtuvo su propia muestra de semen para la respectiva auto colocación, y previamente les hizo la petición que una vez colocada la muestra de semen, no debían tomar duchen vista de que lo que se buscaba era detectar la permanencia del semen ó sus componentes a través del tiempo, por lo tanto las cremas, lociones, etc, fueron eliminados.

Las muestras fueron colocadas en la espalda de cada estudiante, en una área extensa desde la zona ínter escapular hasta la zona lumbar.- Al mismo tiempo, se les solicitó una

muestra de orina que también fue aplicada.- Durante las próximas 72 horas, no pudieron bañarse, y se vistieron solamente con camisas de dacron ( no deja artificios), además que se les solicitó en lo posible evitar fricciones corporales.- El hecho de haber seleccionado la espalda, fue debido a que ellos debieron continuar con sus actividades normales, tal como le ocurriría a una víctima de abuso sexual.- Las muestras fueron estudiadas en los Laboratorios Médicos S.A. sección de Patología Clínica, en la capital de nuestro país.- Y la detección de la fluorescencia fue gracias a la colaboración de los Servicios de Dermatología, del Departamento de Medicina Interna, del Hospital Escuela de Honduras.

## **Aplicación de Muestras y Observaciones**

La cantidad de semen aplicada fue aproximadamente de 50 mililitros, y las áreas fueron separadas para poder colocar al mismo tiempo las muestras de orina.

El aparato de luz ó lámpara de wood a utilizarse era mineralight UVL 56 black ray ultraviolet lamp, Ultraviolet Product Inc. De San Gabriel,, Calif. U.S.A., y previamente se registraron las fluorescencias antes de las aplicaciones, como después de colocada las muestras.- A cada sujeto se le hizo los controles de fluorescencia desde los 15 minutos de aplicada la muestra como a las 4,7,11,24 y 28 horas después de la colocación, sea ésta de semen ó sea de orina.

## **Análisis de laboratorio**

A todas las muestras se les registró la hora de colección, y los hisopos utilizados fueron humedecidos con solución Isotónica y centrifugada para la separación del súper nadante de las células desprendidas.- Se observó al microscopio si estaban presentes los espermatozoides ó sus componentes, para clasificar la presencia ó ausencia de los mismos. La actividad de la fosfatasa ácida fue documentada a través del empleo de p. nitrofenil fosfato como substrato (9).- El punto referencial fue de significación y previamente se definió en 0. 1 UI/m.

La investigación de la enzima p30 fue a través de la técnica de inmunoensayo y dio positividad aproximadamente en la suma de 500 ng/ml.- Los resultados positivos y negativos fueron debidamente registrados.- La metodología investigativa usando la técnica ELISA en los casos de p30, son basados en 2 ng/mi (14).

## **Resultados**

Diez (91%) de los once sujetos en estudio tuvieron un registro minucioso de los resultados que se iban obteniendo, excepto un sujeto el cual por razones fuera de nuestro alcance no se pudo obtener el registro a las 4 horas post-colocación de semen.- En total, se estudiaron un total de 65 muestras.

La apariencia visual del semen y la orina en la piel de los sujetos investigados fueron debidamente documentados en un lapso ininterrumpido de 28 horas.- La fluorescencia del semen inicialmente fue de apariencia brillante y de aspecto coloide hasta su conformación delgada (72% de los sujetos tenían esa delgadez a las 4 horas

aproximadamente pos aplicación, y después del tiempo se volvieron imperceptibles ó muy claro a la visión de piel.- Después de 24 horas, la piel con el semen apareció completamente transparente en 9 sujetos (82%/H.- En contraste, la piel en donde se aplicó la orina, siempre tuvo la imagen transparente durante todo el estudio.

## **Hallazgos con la Lámpara de Wood**

El color de la fluorescencia del semen fue indistinguible del color de la fluorescencia de la orina a través de todo el periodo de la investigación.- Los patrones de la fluorescencia del semen se presentaron irregulares en textura mientras que, los patrones de la florescencia en orina fueron consistentemente homogéneos en todo el período.- A las 28 horas, 6 sujetos (54%), exhibían aún restos de fluorescencia en el sitio en donde se aplicó el semen, pero ninguno daba una fluorescencia b suficientemente intensa como para definir: florescencia positiva.- En contraposición, la fluorescencia de 10 de los 11 sujetos a los que se les colocó simultáneamente muestras de orina fueron: Fluorescencia positiva durante todo el período de 28 horas.

## **Análisis Forense**

La detección de espermatozoides en la investigación microscópica es generalmente aceptada como la evidencia más sensitiva y específica para la detección de semen (5).- A las 28 horas. el 55% de muestras de semen que fueron colocadas no mostraron evidencia de la presencia de espermatozoides.- El declinar de la actividad de la fosfatasa ácida fue progresiva, siendo que a las 28 horas, solamente 3 (27%) de los once estudiantes de medicina resultaron negativos por la fosfatasa ácida. Los niveles de p30 detectados a través de la técnica de inmunoensayo también declinó con el pasar del tiempo.- A las once horas después de la aplicación del semen, cuatro (36%) de 11 muestras fueron negativas, y en 28 horas siete (64%) de esas mismas once muestras fueron negativas.- La investigación de P30 con la técnica de ELISA probó ser la más sensitiva.- Antes de las 28 horas ninguna de las muestras fue negativa.- En 28 horas continuas, solamente una (9%) de las once muestras obtuvo niveles bajos para la aceptación del límite inferior.- Por todo lo expuesto es que consideramos que en la investigación de p30 debe utilizarse la técnica de ELISA, por ser más sensible que la realizada por la técnica del inmunoensayo, y así lograr mejores resultados en la investigación de Detección de Semen en la piel.

Sesenta y tres (97%) de las 65 muestras de semen en la piel fueron positivas con la técnica de Elisa, mientras 47 (72%), 53 (91 %) de las muestras fueron encontradas positivas con la técnica de inmunoensayo, microscopía y fosfatasa ácida, respectivamente.

Vemos entonces que, la investigación de p30 en metodología Elisa es 100% más sensitiva para la detección de semen en muestras sin fluorescencia. -Esto último en oposición de las características de la búsqueda que se efectuó con la técnica de inmunoensayo para p30, búsqueda microscópica, y fosfatasa ácida, que dio positivo solamente en 34%, 56%, y 69% del tiempo, respectivamente.

### **Comentario al Estudio**

Nuestra investigación llegó a la conclusión de que los hallazgos con la lámpara de wood son completamente inespecíficos y son solamente sensitivos para la detección de semen en la piel humana.- El tiempo transcurrido entre la examinación con la lámpara de wood y la hora del hecho en un caso de abuso sexual, es muy determinante como factor influyente en los resultados de esos casos que son denunciados a los cuerpos de investigación. Como se ha demostrado en éste estudio la fluorescencia del semen en la piel disminuye significativamente al transcurrir las 28 horas de depósito en la superficie de la piel humana.- En contraste de lo que ocurre con restos de orina en la piel, la fluorescencia se mantiene por más de 28 horas y puede persistir en un período de 80 horas después del hecho.- Ahora, es importante recordar que la presencia de la orina es de esperarse encontrar en el área genital en los niños, por lo que los resultados de fluorescencia positivos deben considerarse con mucha cautela en éste grupo de edad.- Sobretudo, hallazgos de fluorescencia positiva con la lámpara de wood, no deben ser interpretados como hallazgo definitivo ó menos aún patognomónico de presencias de semen, en vista de que existen muchas substancias que causan fluorescencia en la piel humana.- Más importante sería, el considerar que una fluorescencia negativa, no es sinónimo de ausencia de semen, ó en todo caso de no contacto sexual íntimo por la indicación indirecta de ausencia de semen.

Es de vital consideración de que, existen otras metodologías diagnósticas que ya hemos mencionado que detectan el semen, cuando la fluorescencia no ha sido contribuyente a nuestra investigación.- El más sensitivo de los cuatro test que nosotros estudiamos para la detección de semen en la piel humana fue la búsqueda a través de la técnica p30 Elisa.- Esta metodología investigativa ofrece especificidad y sensibilidad en la detección de semen en las muestras vaginales poscoitales (10).- La rapidez en la detección de espermias en las muestras de semen es algo que debe ser motivo de preocupación en la investigación forense, por lo tanto debe tornarse encuentra las fricciones con ropas en aquellos casos en los que estén ausentes. Nosotros conocemos como médicos que la textura, temperatura y química de la piel de un adulto es diferente a la del área perineal de un niño.

### **Recomendaciones al usar la Lámpara de Wood**

Hay limitaciones que deben ser consideradas en la utilidad de éstos aparatos, entre ellos el médico forense examinador debe reconocer el área anatómica dependiendo de la historia narrada, y buscando en las zonas referidas donde hubo contacto sexual.- Recordar que hay áreas anatómicas que pueden disminuir la fluorescencia, pero existen otras donde se persiste por mayor tiempo.- Como la fluorescencia puede persistir por más de 28 horas y permanecer en forma standard hasta por un tiempo de 72 horas, nosotros aconsejarnos su uso en aquellos casos donde se denuncie un asalto sexual (15).- Durante la examinación con éste aparato, nosotros recomendamos tomar muestras para estudio de semen en la piel humana en donde la fluorescencia se haya presentado, y específicamente en la parte en donde exista historia de haber recibido la eyacuación seminal.- Ahora, recordamos que la negatividad no es sinónimo de no contacto sexual concomitante con eyacuación, todo dependerá del tiempo transcurrido.- En aquellos lugares distantes de una buena

oficina Médico Forense, pueden tomarse las muestras , refrigerarse y remitirse a un laboratorio para su respectivo análisis (16,17)

#### **Bibliografía Investigada:**

- (1) Delitos Sexuales en Honduras. Castro- Dickerman. Recomendaciones al usar Lámpara de Wood. Trabajo de Exposición. Semana Científica de la UNAH. Facultad de Ciencias Médicas. 1990.
- (2) Deyoung M. Disclosing Sexual Abuse. *Child Welfare*. 1987;66:217-223
- (3) Pollack O.J. Semen ans seminal stain. *Arch Pathol*. 1943, 35: 140-196.
- (4) Krugman RD Recognition of Sexual abuse in children. *Pediatr Rev*. 1986; 8 : 25 30
- (5) Identificación of semen and vaginal secretions. In: Gaensslen RE, ed. Gaensslen RE, ed. Sourcebook in Forensic Serology, Immunology, and Biochemistry. Washington, D.C.: US Dept of Justice, National Institute of Justice; 1983. Document J28.2: 176/2: 149~ 18 1.
- (6) Sensabaugh GF isoenzymes in forensic sciences. In: Rattazzi MC, Seanadaliós JG. Whitt GS, eds. Isoenzymes- current Topics in Biological and Medical Research. New York, NY : Alan R Liss Inc; 1982; 6: 247-282.
- (7) Wojcieszyn JW. Wang M.C, Lee CI, Murphy GP, Chu Tm. Purification and characterization of a human urinary acid phosphatase. *J Appl Biochem*. 1979; 1: 223 234.
- (8) Kirk JE, Eisenstein A, Maebyrde CM. The acid phosphatase concentration of the prostatic exprimate during normal puberty. *J Clin Endocrinol metab*. 1952; 12: 338-345.
- (9) Sensabaugh GF The quantitative acid phosphatase concentration of prostatic exprimate during normal puberty. *J Clin Endocrinol Metab*. 1952., 12:338-345.
- (10) Graves HCB, Sensabaugh GF, Blake Et. Postcoital detection of a male -specific semen protein. *N Engl J med*. 1985., 312: 338-343.
- (11) Baehtel FS. The Identification and individualization of semen stains In: Safértein R, ed. Forensic Science Handbook. Englewood Cliffs. NP Prentice Hall, 1988: 2: 347-392.
- (12) Oppitts E. Eine neue Farbemethode Zum Nachweis der Spermien be Sittlichkeitsdelikten. *Arkiv Kriminol*. 1969, 144: 145-148.
- (13) Poyntz FM, Martín PI). Comparison of P30 and acid phosphatase levels in postcoital vaginal swabs from donor and case-work studies. *Forensic Sci Int* 1984,24:17-25
- (14) Loor R, Mtlkulu T, Dewitt SK. Individual and simultaneous monoclonal antibody-based immunoassays of prostate- specific antigenand prostatic acid phosphatase. *J Clin Immunoassay*. 1986, 9: 159-163.
- (15) California Medical Protocol for the examination of Sexual Assault and Child Sexual Abuse Victims. Sacramento, Calif: State of California, Office of Criminal Justice Planning, 1987: 17-26.
- (16) Sensabaugh GF, Bashinski JS, Blake ET. The Laboratorys role in investigating rape. *Diagri Med*. 1985, 8: 46-53.
- (17) Berkowitz Cd. Sexual abuse of children and adolescents. *Ady Pediatr*. 1987, 34: 275-312.