



---

**CUANTIFICACIÓN DE LA FOSFATASA ÁCIDA  
TOTAL Y PROSTÁTICA, Y SU IMPORTANCIA  
EN LA INVESTIGACIÓN FORENSE**

QUANTIFICATION OF THE TOTAL AND PROSTATE  
ACID FOSFATASA, AND ITS IMPORTANCE IN THE  
FORENSIC INVESTIGATION

**Hiorley E. Almaral Rodríguez**

*Lcda. En Bioanálisis*

*Especialista en Criminalística*

## RESUMEN

Cuando se sospecha que una evidencia física está contaminada con muestra de semen humano, esta es llevada a los laboratorios de microanálisis. Por tanto, en esta investigación, se determinó de una manera cuantitativa, la actividad de la Fosfatasa ácida total y prostática presente en un grupo muestras de semen humano con una data de 24 horas. Para ello, se trabajó con 39 muestras de semen constituidos en 6 pool, los cuales fueron inoculados sobre 3 soportes absorbentes de diferente calidad, luego, se analizaron a través de una técnica enzimática, se midieron las concentraciones de la enzima total y prostática en un espectrofotómetro, los resultados obtenidos presentaron desproporcionalidad entre ellos.

Por tanto, se estableció que el método cuantitativo es más preciso y certero en el análisis de manchas de semen humano, por tener la propiedad de reproducir datos controlados, que sin duda alguna mantiene los principios y garantías procesales de la evidencia física.

**Palabras clave:** delitos sexuales, semen, método cuantitativo, Fosfatasa ácida total y prostática.

## ABSTRACT

When one suspects that a physical evidence is contaminated with simple of human semen, this is taken to the laboratorios of microanalysis. Therefore, in this investigation, it was determined of a quantitative way, the activity of total the acid fofatasa and prostate present in a group simple of human semen with a data of 24 hours. For it, one worked with thirty and five constituted samples of semen in 6 pool, which were inoculated on three absorbent supports of different quality, then, they were analyzed through an enzymatic technique, were moderate the concentrations of the total and prostate enzyme in a spectrophotometer, the obtained results presented displayed desproporcionalidad among them. By all this, it was established that the quantitative method is more precise and accurate in the analysis of spots of human semen, to have the property to reproduce controlled

data, that doubtless maintain the principles and procedural guarantees of the physical evidence.

**Key words:** sexual crimes, semen, quantitative method, total and prostate acid fosfatasa.

Entre los delitos más comunes en la sociedad se encuentran los de carácter sexual, específicamente los casos de violaciones donde es agravada la libertad de la víctima, ya que la misma es sometida a la humillación y denigración de su integridad física y moral.

La evidencia física más destacada y relevante en este tipo hechos, es la de origen seminal; algunos autores como Sifontes (1973) y Montiel (2005), consideran que estas muestras siguen en importancia a las de la sangre, y por tanto su análisis debe hacerse a priori, ya que tienen carácter individualizador e identificador.

Las muestras de origen seminal se analizan en el Laboratorio de Microanálisis del Cuerpo de Investigaciones Científicas Penales y Criminalísticas (CICPC); mediante un protocolo de identificación, el analista busca por todo los medios tratar de determinar y demostrar que la muestra dubitada es semen, para ello, este espécimen, se somete a diferentes procedimientos químicos y físicos, tanto de orientación como de certeza.

Por tanto, cuando una muestra dudosa llega al laboratorio, el perito practica sobre ésta una serie de pruebas para tratar de buscar su origen e individualización, el primer análisis es la observación de la mancha, donde se estudian sus características macroscópicas; como forma, color, estado de acidez y alcalinidad (pH), textura, luminiscencia con luz ultravioleta (UV), entre otras. En segundo lugar, se realiza el examen microscópico para la visualización de espermatozoides; si el resultado de esta prueba es positivo, se puede aseverar que la muestra estudiada es semen.

Sin embargo, los espermatozoides son muy sensibles a los cambios osmóticos del líquido espermático, en especial cuando éste se seca, ya que la membrana citoplasmática de esta célula se degrada o lisa fácilmente. Existen también otras condiciones en las cuales es imposible observar espermatozoides en una muestra de semen, como son los casos donde el individuo presenta azoospermia, o se ha realizado una vasectomía, entre otros.

Entonces, cuando no es posible por parte del perito visualizar este elemento, se buscan otras opciones que permitan identificar al semen.

Cuando el caso es éste, se recurren a pruebas más específicas como lo es la determinación de la enzima Fosfatasa ácida. Por tanto, esta enzima posee una fracción total y otra prostática, esta última como su nombre lo indica proviene única y exclusivamente de la próstata, ambas se determinan siempre, pero por supuesto, la segunda es la que tiene mayor validez en casos de muestras sospechosas de semen; esto ocurre, porque existen otros orígenes (humanos y vegetales) que aportan esta enzima aunque en menor concentración.

Aunado a esto, es importante resaltar que muchos laboratorios forenses llevan a cabo la determinación enzimática de ambas fracciones de manera cualitativa, donde el resultado obtenido a través de esta técnica ofrece sólo dos opciones: positivo o negativo, es decir, únicamente demuestra la presencia o ausencia de la enzima en la muestra estudiada.

Desde el punto de vista analítico, esta técnica no le permite al investigador determinar concretamente si la fuente de la enzima realmente proviene del líquido espermático o no, es por todo esto, que en la criminalística, el valor probatorio de esta técnica muchas veces es sujeto de réplica en los juicios debido a la falta de especificidad evidente. Por tanto, en un caso de delito sexual ésta puede ser anulada o rechazada por alguna de las partes, porque siempre quedaría la duda del resultado.

Pero si esta determinación se realizara de manera cuantitativa, es decir, la reacción se midiera a través de un espectrofotómetro, la técnica tomaría mayor valor probatorio, y pasaría a ser una prueba de certeza y no de orientación, ya que se mide la concentración exacta de la enzima, aportándole mayor información y precisión al investigador, y por ende al juicio.

En este sentido, es importante aclarar que en el análisis bioquímico no es lo mismo decir por ejemplo: se evidenció la presencia de Fosfatasa ácida en la muestra examinada, que decir que su valor fue de 0,5 U/L. Este hecho se debe, a que estadísticamente todo método cuantitativo está basado en la inducción probabilística y positivista de datos controlados, reproducibles y certeros, que conducirán siempre a la objetividad de los resultados. En contraposición, un ensayo que

se realice de manera cualitativa, tendrá por sí misma la limitación de establecer matemáticamente la concentración de la enzima en una muestra estudiada.

En resumen a todo lo planteado, se puede entender que aunque el líquido seminal es el que posee mayor cantidad de Fosfatasa ácida, su importancia forense como prueba determinante en el establecimiento de un hecho ilícito de carácter sexual, estará dado, por un correcto protocolo de identificación, que no dé lugar a dudas de la procedencia del material estudiado, y esto se logrará siempre y cuando la metodología aplicada sea cuantitativa.

De esta manera, y como objetivo general de esta investigación, se procedió a cuantificar mediante la aplicación de un método bioquímico, la concentración de la enzima Fosfatasa ácida total y prostática en manchas seminales, para así establecer su importancia en la investigación forense. Para ello, fue necesario en primer lugar, reproducir a través de un protocolo forense, las condiciones propias y normales de una evidencia física contaminada con semen humano; y a partir de estas muestras, determinar la concentración de la enzima de ambas fracciones, y así, establecer a partir de los resultados obtenidos, la importancia de realizar la cuantificación enzimática en los laboratorios.

La justificación de esta cuantificación, radica en que los datos obtenidos serán valores numéricos (concentraciones) que aportaran mayor especificidad a la determinación en casos donde se investigue un delito sexual, todo esto, con la finalidad de establecer científicamente, que una prueba cualitativa no es de certeza, y solo puede ser considerada de orientación, en primer lugar por comportamiento estadístico, y en segundo lugar, por el hecho de que existen otras fuentes portadoras de la enzima, que podrían dejar abierta otra posibilidad de origen.

En otras palabras, si el perito no mide la reacción química en ningún equipo, y solo se conforma con visualizar la coloración presentada en el tubo de ensayo estudiado, el mismo, puede concluir que la mancha analizada es semen humano, siendo esta afirmación errada, ya que la positividad del experimento se puede deber a otro

elemento que sea portador de la enzima y que se encuentre en el medio ambiente del sitio del suceso.

Debido a esto, es que el análisis de Fosfatasa ácida en muchos casos no es incorporado como medio de prueba en los juicios, por su falta de especificidad aparente; esta dificultad puede ser subsanada si se realiza un correcto protocolo en la determinación de la enzima, la cual incluya la medición de las cantidades reales a través del uso de un equipo espectrofotómetro.

Si bien es cierto, la determinación de la Fosfatasa ácida en una muestra dudosa de semen, es una de las pruebas que se realiza en el laboratorio para demostrar en primera instancia que en el sitio del suceso ocurrió una eyaculación, sin embargo, es importante señalar que esta determinación por sí sola no conduce a conclusión positiva de un hecho sexual, ya que para llegar a esta aseveración, el Juez tiene que evaluar otros elementos relacionados al delito, como son: heridas mostradas en la víctima, móvil del victimario, entre muchas otras, Giugni (2000).

El valor teórico de esta investigación radica en que el semen posee las mismas propiedades grupo-específicas de la sangre, permitiendo, por lo tanto, la posibilidad de individualizar a personas, sobre este aspecto Sifontes (op.cit), destaca la importancia de la actividad de la fosfatasa ácida por tener la propiedad de señalar el origen de una mancha, cuando es imposible detectar la presencia de espermatozoides, siendo esto de gran valor, cuando el donante de la muestra posee alguna enfermedad congénita en sus órganos reproductores, senilidad, algún tipo de azoospermia o vasectomía, ya que en estos casos, la única opción segura para el reconocimiento de la muestra, es el análisis enzimático.

Por todo esto, queda establecida la importancia de realizar en los laboratorios de microanálisis una correcta determinación de la enzima; ya que como se mencionó anteriormente, esto puede aportar información relevante en un caso de delito sexual, y por ende a la criminalística, de esta manera, se debe reforzar aún más el criterio técnico-científico de cuantificar la Fosfatasa ácida total y prostática en todo momento.

## **Metodología Experimental:**

El desarrollo de este trabajo de investigación es de tipo experimental, ya que, tendrá como fin la descripción del fenómeno producido, siempre y cuando las condiciones de ensayo se desarrollen bajo unas condiciones rigurosamente controladas. Por cuanto, en el presente trabajo se sometió a estudio a un grupo de muestras de semen humano, las cuales fueron inoculadas previamente en tres tipos de superficies absorbentes, esto con la finalidad de reproducir las condiciones propias de una evidencia física hallada en cualquier escena del crimen.

De esta manera, el objetivo principal de esta investigación es demostrar a través de un método cuantitativo, la concentración enzimática de la Fosfatasa ácida total y prostática en estas manchas de semen humano; para posteriormente establecer el comportamiento bioquímico de la enzima y las posibles interferencias de la prueba.

La población de esta investigación está conformada por 39 muestras de semen humano de pacientes diferentes, superando el número de muestras requeridas por la metodología de la investigación científica la cual tiene como límite inferior de 30 muestras. De esta manera, es indispensable señalar que las muestras fueron donadas por el Centro Valenciano de Fertilidad y Esterilidad (CEVALFES), ubicado en el Urológico de Valencia, estado Carabobo.

En este mismo sentido, es de particular interés recalcar que las muestras fueron estudiadas y/o analizadas en el Laboratorio Clínico UNISA, ubicado en la misma ciudad; el período total de recolección y experimentación de las manchas de semen estuvo comprendido entre el 30 de abril del 2009, hasta el 20 de mayo del mismo año.

## **Las Muestras Biológicas**

### **1.- Determinación de la Fosfatasa Ácida Total y Prostática en Muestras Seminales:**

En esta investigación, se trabajó con un pool de muestras seminales, por tanto, en este procedimiento se realizó la determinación



de la enzima en 39 pacientes donadores, que conformaron 6 pool de semen, superando el número de muestras requeridas por los lineamientos de metodología de investigación científica, expuestos por el Area de Estudios de Postgrado de la Universidad de Carabobo, la cual tiene como límite inferior de 30 muestras.

### **Muestras Lamínales**

Se utilizaron tres tipos de soportes absorbentes, los cuales estuvieron constituidos por tejidos de diferentes fibras, y son los que se encuentran frecuentemente en la víctima y en el sitio del suceso, por tanto, en esta investigación se trabajó con telas de la siguiente calidad: 1.- Tela con cien por ciento (100%) de fibras naturales. 2.- Tela semi-sintética, constituida por un sesenta por ciento (60%) de fibras naturales y un cuarenta por ciento (40%) de fibras sintéticas. 3.- Tela de fibras totalmente sintético (100%). Por tanto, la parte experimental se desarrolló en 2 días (48 horas), y la técnica se describe a continuación:

#### **Primer día**

1.- Inocular el pool de semen correspondiente en cada una de las superficies laminares, la idea fundamental de este ensayo es reproducir el primer principio de la Criminalística, el de intercambio o transferencia.

Para ello, se cortó 10 cm<sup>2</sup> de los tres tipos de tela, y sobre estos se colocó la muestra seminal respectiva, es importante señalar que el pH de las mismas fue chequeado con absoluta precisión en cada una de las partes de este experimento, ya que la acidez del líquido seminal se pierde fácilmente.

En este sentido cabe mencionar, que en esta investigación se trabajó con muestras seminales frescas, las cuales eran sembradas el mismo día de emisión del paciente.

Por lo tanto, las muestras se inoculaban diariamente, y la cantidad agregada en cada soporte dependía del volumen final de cada

pool, siempre manteniendo la igualdad en los soportes, es decir, si el volumen final de un pool era de tres mililitros, se distribuía un mililitro para cada soporte.

En este mismo orden de ideas, resultaba indispensable la medición inicial del pH de las muestras seminales, ya que las mismas reflejaban una alcalinidad de 8 a 9, conociendo que el pH promedio de esta secreción es de 7,5 (tiende a la neutralidad), por tanto, las muestras debieron ser acidificadas con el tampón acetato, agregando 20  $\mu$ l de ácido por cada 1 ml de muestra, la finalidad bioquímica de la acidificación es la activación de la enzima.

2.- Preparar una bandeja de plástico forrada con papel, para colocar sobre ésta los soportes, y disminuir el calor y la humedad ambiental, ya que de otro modo estos factores pueden aumentar el tiempo de secado del material.

De esta forma, la bandeja se deja a temperatura ambiente por 24 horas, no sólo para un secado óptimo del material, sino, para reproducir las condiciones propias de una evidencia física en un hecho punible, cuando el perito de campo se enfrenta a un indicio contaminado con muestras biológicas.

## **Segundo día**

3.- Después de transcurrida las 24 horas, se cortó 2,5 cm<sup>2</sup> de la mancha, específicamente del centro de la misma. Para realizar este procedimiento, se tomaron las siguientes premisas:

3.1- Se cortó una cartulina de 2,5 centímetros cuadrados, con la finalidad de utilizarla como molde o patrón, y así evitar ensuciar la mancha con alguna tinta de bolígrafo o marcador.

3.2- Se utilizó una cartulina por cada tipo de muestra, es decir, que la pieza con la cual se midió el pool 1, no fue el mismo del pool 2.

3.3- La tijera empleada para realizar los cortes era esterilizada después de cada procedimiento. La finalidad de estos tres pasos fue evitar posibles contaminaciones de la muestra, y así, mantener la credibilidad científica del experimento.

4.- Introducir cada trozo de tela en un tubo de ensayo estéril con 5ml de agua destilada (método de Sivarán y Bami), es importante señalar que antes de introducir las muestras en los tubos se verificó el equilibrio ácido-base de cada suspensión, la cual estuvo alrededor de 7, ya que este es el pH del agua destilada utilizada en el laboratorio.

Por tanto, se agregó 100  $\mu$ l de ácido a cada tubo para optimizar el medio a la actividad de la Fosfatasa ácida total y prostática, de este modo, y para resuspender bien el ácido en los tubos, se colocó la gradilla en el rotador a 200 revoluciones por minuto (rpm).

5.- Mezclar los tubos respectivos, y dejar en contacto ambas piezas por una hora, faltando 15 minutos para cumplir el lapso de tiempo, se colocó la gradilla en un rotador y se mezcló a 150 rpm, con la finalidad de extraer en lo posible la mayor cantidad de muestra, posterior a este procedimiento, se verificó el pH de la muestra, y en todos los casos el valor estuvo entre 4,5 a 5 (ácido).

6.- Dispensar un mililitro de reactivo *FOSFATASA ÁCIDA* cinética-colorimétrica marca INVELAB, en un tubo de ensayo estéril nuevo.

Es importante señalar, que el fundamento de esta técnica es la de medir la actividad de la enzima, bioquímicamente, el  $\delta$ -naftilfosfato es hidrolizado por la Fosfatasa ácida presente en la muestra a  $\delta$ -naftol y fosfato inorgánico. La cantidad de hidrólisis es proporcional a la actividad de la enzima presente. El  $\delta$ -naftol producido se acopla con el rojo estable TR, para producir un complejo coloreado que absorbe a una longitud de onda de 405 nm. La reacción se puede cuantificar fotométricamente porque la unión es instantánea.

Por su parte, el L-tartrato inhibe a la Fosfatasa ácida prostática pero no interfiere con el mecanismo de la reacción; si el ensayo es efectuado en presencia y en ausencia de L-tartrato, la diferencia entre los resultados de los dos ensayos es igual para la Fosfatasa ácida prostática en el medio.

El criterio básico para la elección de esta técnica de análisis, estuvo dada, por ser un método químico rápido y sencillo, y es el que se utiliza actualmente en los laboratorios forenses.

7.- Adicionar al tubo de reacción, 100  $\mu$ l de la suspensión realizada en el paso número cinco (N<sup>o</sup> 5), y se mezcla bien; es importante señalar, que la suspensión seminal obtenida, fue diluida en una proporción 1:10 con agua destilada, con la finalidad de obtener valores más reales y confiables de la enzima, y evitar que las lecturas de absorbancia se salieran de la curva de calibración.

8.- Determinar las absorbancia de la suspensión cada sesenta segundos, por un lapso de tiempo de 5 minutos (5 lecturas); para realizar estas lecturas, se utilizó un espectrofotómetro, en este equipo se midieron las absorbancia directas de las muestras analizadas y se calcularon las concentraciones multiplicando el valor obtenido por el factor respectivo.

### **CONTROL DE CALIDAD.**

En la actualidad, existen autores que han experimentado con la medición de la fosfatasa ácida en muestras vegetales; entre estos, cabe mencionar a Fernández y Padula quienes en 1983, publicaron un experimento comparativo entre la Fosfatasa ácida total del semen con la de algunos extractos vegetales, donde, a través del método electroforético encontraron gran similitud entre las bandas corridas de ambos elementos, lo que implicó interferencia en el ensayo, creando así falsos positivos.

Con la finalidad de verificar si realmente este método bioquímico puede presentar interferencia con otras fuentes orgánicas portadoras de esta enzima, se seleccionó un grupo de vegetales constituido por 6 diferentes especímenes, estos fueron los siguientes: Sábila con concha, Sábila sin concha, Lechosa, Alfalfa, Ají y Coliflor; el protocolo forense de esta experticia, fue la misma aplicada con las muestras seminales.

Por otra parte, y con la finalidad de establecer la veracidad científica de la parte experimental de este trabajo, se realizaron algunos controles de calidad con la finalidad básica de chequear continuamente los instrumentos de medición utilizados, la lámpara

del espectrofotómetro, el reactivo y la técnica en general; estos controles se describen a continuación:

1. Control blanco del ensayo.
2. Absorbancia del Reactivo de Fosfatasa ácida cinética-colorimétrica.
3. Absorbancia de los tubos de ensayo
4. Control de calidad con patrones o estándares de concentraciones conocidas
5. Corroboración entre la curva calibración directa y la determinación de la absorbancia.

Para el análisis de los resultados de este trabajo, y como primer paso, se ordenaron, agruparon y clasificaron las tablas de registro que fueron utilizadas como instrumentos de recolección de datos, posterior a esto, se aplicó un procedimiento de análisis de tipo cuantitativo, ya que los datos que aportó la metodología poseen carácter numérico.

En este sentido, los valores obtenidos fueron sometidos a un método estadístico que guardó estrecha relación con el nivel de medición de la variable y con la formulación de la hipótesis, ya que esta información fundamentó el análisis, la interpretación y las conclusiones de la investigación, por su parte, debe señalarse que el método estadístico fue desarrollado en una hoja de cálculo.

De este modo, el primer ensayo realizado en este trabajo, fue la determinación de la Fosfatasa ácida total en las manchas de semen, los resultados obtenidos fueron los siguientes:

El término concentración inicial, refleja el valor neto de la Fosfatasa ácida total presente en cada pool de semen puro y sin procesar; el principio estadístico para calcular este valor, es la determinación del fenómeno de absorción y almacenaje de la enzima en las diferentes fibras (soportes absorbentes) utilizadas en esta investigación, y así establecer que superficie se presenta más óptima para realizar esta función.

Al analizar el presente cuadro, se puede apreciar una inconsistencia en los resultados obtenidos, de esta forma, se observa que el intervalo de las concentraciones iniciales se encuentra entre 9,947 – 16,761 U/L, con una media o promedio aritmético 13,288 U/L, de igual manera, los datos determinados de cada soporte presentaron estas características.

Como se ha explicado anteriormente, la Fosfatasa ácida prostática, es una fracción de la total y proviene única y exclusivamente de la próstata, por tanto, esta determinación es de suma importancia en la experticia forense de una mancha de semen, ya que le confiere carácter de especificidad a la prueba, por el hecho de que la Fosfatasa ácida total se encuentre en otras secreciones; los resultados obtenidos en este experimento se exponen en el siguiente cuadro:

Por tanto, es importante recordar que cada pool de semen poseía un volumen total diferente, debido a que las muestras donadas por los pacientes tenían cantidades variadas, lo que implicó, que la sumatoria de todos los líquidos seminales, se dispensara de manera equitativa entre las tres fibras; es posible desde el punto de vista químico, que la superficie absorbente que obtuvo mayor cantidad de líquido seminal lógicamente presentarían mayor concentración de Fosfatasa ácida.

De esta manera, en este trabajo, lo que se necesitaba era crear un grupo de manchas seminales que presentaran variabilidad en su composición, para así demostrar científicamente porque con una simple visualización de la reacción (método cualitativo) era imposible determinar diferencias evidentes entre las muestras; ya que a simple vista todos los tubos estudiados fueron iguales (presentaron la misma coloración), solo con la utilización de un método cuantitativo se pudo diferenciar cual muestra obtuvo mayor o menor concentración enzimática.

De tal manera, que en la parte experimental de la determinación química de la Fosfatasa ácida total, y de la fracción prostática, todos los tubos de reacción presentaron una colocación rojiza desde el momento que interactuó la muestra con el reactivo, esta propiedad se hizo más intensa conforme pasaba el tiempo, a tal punto que a

los cinco minutos (tiempo final de lectura), todos los tubos poseían una intensa coloración.

En este sentido, es importante explicar que la diferencia teórica entre estas superficies es la constitución y agrupamiento de sus fibras, mientras más agrupadas sean sus hilos, su comportamiento será menos permeable, esta propiedad física se observó en el momento de inocular la muestra sobre los tres soportes, la tela que absorbió el inoculo con mayor velocidad fue la fibra natural (100% algodón) y la semi-sintética, la sintética por ser más impermeable, tardo mayor tiempo en absorber el liquido seminal, aunado al hecho de que esta sustancia biológica tiene como propiedad intrínseca una alta viscosidad.

Por otra parte, y como se ha explicado anteriormente, la Fosfatasa ácida prostática, es una fracción de la total y proviene única y exclusivamente de la próstata, por tanto, esta determinación es de suma importancia en la experticia forense de una mancha de semen, ya que le confiere carácter de especificidad a la prueba, por el hecho de que la Fosfatasa ácida total se encuentre en otras secreciones; los resultados obtenidos en este experimento se exponen en el siguiente cuadro.

Concentración de Actividad de la Fosfatasa Ácida Prostática  
Determinada en las Manchas de Semen Estudiadas.

Pool	Conc. Inicial U/L	F. Natural U/L	F. Semi-sintética U/L	F. Sintética U/L
1	7,986	7,080	5,287	3,521
2	11,693	7,768	9,973	10,224
3	9,567	3,600	8,314	5,586
4	7,896	2,836	6,108	2,298
5	6,897	3,105	5,524	1,351
6	9,201	7,897	7,539	3,989
$\bar{X}$	8,873	5,381	7,124	4,495

El cálculo estadístico utilizado para la Fosfatasa ácida prostática, fue el mismo de la total; por consiguiente, todos los elementos estudiados en este punto, presentaron concentraciones y resultados proporcionales al anterior, es decir, que los hallazgos evidenciados en esta parte se correlacionan con total exactitud con los de la enzima total.

En este sentido, se evidenció claramente que la fibra semi-sintética, fue la que arrojó mayor concentración de la enzima con un valor de siete mil ciento veinticuatro unidades sobre litro (7,124 U/L), seguido por la natural con cinco mil trescientos ochenta y uno (5,381 U/l) y la semi-sintética con cuatro mil cuatrocientos noventa y cinco (4,495 U/L) unidades sobre litro respectivamente.

En otro orden de ideas, hay que tener claro, que la mayoría de las manchas seminales estudiadas en el departamento de Microanálisis poseen mayor tiempo, ya que dependerá en primer lugar del descubrimiento del sitio del suceso, y seguidamente, del traslado de la evidencia física al laboratorio, alterando así el tiempo de vida media de la enzima, lo que conlleva al descenso brusco de la concentración enzimática.

Aunado a esta característica, es importante señalar, que existen otros factores que influyen significativamente en la actividad de la Fosfatasa ácida total y prostático, como son las condiciones ambientales que rodean tanto al lugar de los hecho como a la víctima, entre estos cabe mencionar, la temperatura, la humedad, exposición a ciertos insectos post mortem, intemperie, entre otros.

Por todo esto, se puede entender que en un caso forense de índole sexual, donde se colecte material biológico subjetivo a ser liquido seminal, las reacciones colorimétricas halladas en las manchas dubitadas serán más tenues y débiles que las registradas en este experimento, por tanto, su reporte dependerá de la capacidad visual del perito (método cualitativo), hecho tal, que carece de precisión y especificidad científica, ya que todo análisis cualitativo posee intrínsecamente la incapacidad de producir datos objetivos y certeros; por tanto, esta limitación disminuye el valor probatorio de esta evidencia en la investigación penal y en el juicio, afectando considerablemente a la víctima y al victimario.



A partir de lo expuesto, queda claro el hecho de que en Venezuela no se pueden seguir utilizando métodos forenses anticuados, que entorpezcan la investigación criminalística y que den resultados débiles y limitados a la experticia forense, cuando se observa que otros países desarrollan equipos de laboratorio más específicos y certeros en la identificación e individualización de las evidencias físicas, que a su vez, simplifican el trabajo diario del perito; y por ende, la investigación penal.

En este mismo orden de ideas, es inaceptable el hecho que se continúe reportando un estudio de una mancha de semen bajo un criterio cualitativo, donde el único inconveniente fue la no medición (a través de un espectrofotómetro) de la reacción, donde cualquier equipo que registre en absorbancia, por más sencillo que este sea, será capaz de determinar la concentración exacta de la enzima en la mancha estudiada.

De esta manera, el hecho de que la determinación de la Fosfatasa ácida total y prostática se realice de manera visual induce a que el resultado dependa de la capacidad óptica de cada perito, por tanto, la evidencia física no será reproducible si se estudia en dos ensayos simultáneos, por lo que no puede existir contradicción si no existe uniformidad en el análisis de la muestra, ya que la capacidad visual de ambos peritos será diferente, dejando impreso en el resultado un gran rango de error.

Por otro lado, la no cuantificación de la Fosfatasa ácida total y la prostática repercutido en el hecho que en la actualidad no se cuenta con información, ni datos matemáticos que expliquen el comportamiento de la enzima en el medio ambiente; esta contrariedad se observó en el desarrollo de este trabajo de investigación, ya que resultó complicado el hallazgo de material relacionado con el tema, y sobre todo información actualizada.

Sin embargo, sería interesante estudiar el comportamiento de la enzima bajo otras condiciones experimentales, como variación de la temperatura, humedad, influencia de los rayos ultravioleta, entre otros; ya que con esta información se podría crear bases de datos y curvas de actividad enzimática, donde el perito de laboratorio podría

aproximarse al tiempo de eyaculación ya que contaría con valores normales de la enzima en cada condición atmosférica, hecho que sin duda alguna, aumentaría la importancia de este medio de prueba en la investigación judicial, sin embargo, tendría que realizarse innumerables investigaciones al respecto.

Por otro lado, si se contara con un conocimiento extenso del comportamiento de esta enzima, podrían realizarse tablas de referencia entre la concentración de la Fosfatasa ácida total y prostática, y la calidad de la fibra absorbente o la superficie manchada, ya que toda esta información a parte de argumentar la objetividad de la experticia forense, simplificaría el trabajo diario del perito en el laboratorio; por supuesto, todas estas consideraciones serían posibles siempre y cuando la enzima sea cuantificada, sin esta metodología resulta imposible establecer las hipótesis antes planteadas.

Por otra parte, la experimentación con vegetales, reveló una condición contraria a la hallada con las muestras de semen humano, en este sentido, no se evidenció reacción colorimétrica en los tubos de reacción, ya que todos conservaron el aspecto incoloro del reactivo inicial, por su parte, la cuantificación de estos tubos demostraron solo unas pequeñas variaciones en las absorbancias, pero que al final era una repetición de la inicial.

Por todo esto, queda establecido que los vegetales no producen falsos positivos en una experticia de semen humano que sea analizada bajo las condiciones experimentales aplicadas en esta investigación, lo cual no quiere decir, que estos vegetales no posean Fosfatasa ácida total en su estructura, simplemente que bajo la técnica enzimática cinética-colorimétrica aquí aplicada, estos no causan interferencia.

Por tanto, después de la conjunción de todos estos elementos, se desarrollo la parte experimental del trabajo, las conclusiones relevantes de este estudio se mencionan a continuación:

1. A través del estudio de libros y manuales criminalísticos, en este trabajo, se logró reproducir en el laboratorio manchas de semen humano, que simularon ser con

gran precisión, una evidencia física contaminada con este material biológico.

2. Al determinar a través de un espectrofotómetro la concentración de la Fosfatasa ácida total, se demostró que el rango de valores para la concentración inicial de cada pool osciló entre 9,947 U/L a 16,761 U/L, con un promedio aritmético de 13,288 U/L.
3. El rango de la concentración inicial de la Fosfatasa ácida prostática estuvo comprendida entre 6,897 U/L a 11,567 U/L, con un promedio aritmético de 8,873 U/L.
4. Bajo las condiciones experimentales aquí aplicadas (tanto del reactivo como las del medio ambiente), se demostró que las manchas de Semen Humano con una data de 24 horas poseen un valor de Fosfatasa ácida total de 3, 957 U/L a 12,445 U/L, y de 1,351 U/L a 10,224 U/L para la fracción prostática.
5. El soporte absorbente que presentó la propiedad de almacenar la mayor concentración de Fosfatasa ácida total fue la fibra semi-sintética con un setenta y tres punto ochenta y uno por ciento (73,81%) seguido por la fibra natural con cincuenta y ocho punto cincuenta y cinco por ciento (58,55%), y la fibra sintética con un cuarenta y nueve punto treinta por ciento (49,30%).
6. Por su parte y como era de esperarse, la fracción prostática presentó el mismo comportamiento que la enzima total, los valores obtenidos en este punto fueron cincuenta y tres punto sesenta y uno por ciento (53,61%) para la fibra semi-sintética; cuarenta punto cuarenta y nueve por ciento (40,49 %) para la natural; y treinta y tres punto ochenta tres por ciento (33,83%) para la sintética.
7. Con la visualización simple (método cualitativo) de los tubos de reacción tanto para la Fosfatasa ácida total

como para la fracción no prostática, fue imposible demostrar que mancha de semen presentó menor o mayor concentración enzimática, ya que todas las reacciones colorimétricas fueron iguales.

8. Al medir en el espectrofotómetro (método cuantitativo) todos los tubos de reacción, se observó diferencias significativas en las concentraciones de la enzima en las manchas de semen humano estudiadas.
9. La concentración de la Fosfatasa ácida total y prostática es proporcional al volumen final de cada mancha de semen estudiada, en este sentido, a mayor cantidad de semen presente en la mancha, se evidenciara mayor concentración enzimática
10. A través de la metodología química aplicada en este trabajo, se demostró que el grupo de vegetales aquí estudiado, no causó interferencia con la reacción química, por tanto, estos no producen falsos positivos bajo esta técnica de análisis.
11. La no cuantificación de la enzima presente en la mancha de semen dubitada, disminuye los principios y garantías procesales de la evidencia física, ya que una prueba que carezca de reproducibilidad, no puede ser contradicha.
12. La cuantificación de la enzima Fosfatasa ácida total y prostática en una mancha de semen hallada en un sitio del suceso, difícilmente será sujeta a replica en una investigación penal de índole sexual, siempre y cuando, la evidencia haya sido tratada bajo un correcto protocolo de investigación que, aparte de mantener una condición ambiental propia para este tipo de material biológico, cuantifique en todo momento la actividad de la enzima.

Debido a la falta de especificidad científica demostrada en algunas experticias forenses de manchas de semen humano por parte de los entes encargados, es que surgió la necesidad inicial de evaluar la

condición técnica de la determinación enzimática de la Fosfatasa ácida total y prostáticas en los laboratorios forenses.

Por tanto, en este trabajo, se evaluó la importancia del estudio de esta enzima desde diferentes puntos de vista, uno de ellos fue el criterio estadístico-matemático que menciona que todo método cuantitativo trae implícito la reproducibilidad de datos certeros y probabilísticas, que podrán ser extrapolados a cualquier condición de ensayo, mientras, que cualitativamente esta premisa no aplica.

En este mismo orden de ideas, químicamente se demostró que la cuantificación es una herramienta exacta que produce certeza y confiabilidad de la enzima estudiada, por un lado porque se disminuye considerablemente el rango de error, y por otro porque elimina la interferencia de falsos positivos.

De igual manera, se explicó cómo las ciencias jurídicas conservan el criterio positivista del deber ser de la técnica de análisis, en la manera que argumentan el mantenimiento de las garantías y principios procesales de la experticia forense, que sin duda alguna avala y fundamenta los derechos humanos y ciudadanos involucrados en la investigación penal.

Se hace preciso enfatizar, que el elemento más significativo de este trabajo, fue la conjunción de las ciencias naturales con las jurídicas, hecho que sin duda alguna demostró la importancia de la Criminalística en la investigación forense como disciplina necesaria en el reconocimiento, identificación e individualización de las evidencia hallada en el lugar de los hechos, por tanto, a medida que las instituciones penales y criminalísticas evolucionen en la implementación de métodos y técnicas de laboratorio actualizados y certeros en el análisis de cualquier evidencia física, traerá consigo la evolución del conocimiento teórico en los profesionales involucrados en este arte, y por ende, de toda la sociedad.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adelson, L. (1974). **La patología del homicidio**. USA: Thomas
- Alvarado, E. (2005). **Medicina legal**. (2<sup>ª</sup> ed.). México: Trillas.
- Álvarez, F. (2003). **Diccionario de criminalística**. Barcelona: Planeta.
- Balcells, A. (1992). **La clínica y el laboratorio**. (15<sup>ª</sup> ed.). Barcelona: Salvat.
- Barrios, J. (1974). **Guías prácticas de química clínica**. Mérida: talleres gráficos universitarios.
- Bello, J.(2003). **Diccionario médico, una guía esencial con todos los términos de medicina, los trastornos, las enfermedades, sus causas y sus síntomas**. Buenos aires: Médica panamericana
- Castro Bobadilla, D. (2007). **Investigación de delitos sexuales detección de semen en la piel**. [libro en línea]. Disponible: [http:// www.arrakis.es/~Jacoello/ids.pdf.htm](http://www.arrakis.es/~Jacoello/ids.pdf.htm) [Consulta: 2007, Noviembre 07]
- Creazzola, A. y Virguez D. (1991). **Determinación de la actividad enzimática en función del tiempo de la fosfatasa ácida prostática, en muestras seminales**. Trabajo de grado, Instituto universitario de la policía científica, Caracas.
- Código Penal de Venezuela.(2006).**Gaceta Oficial de la República Bolivariana de Venezuela, 5768**, Abril 13, 2005.
- Colmenarez, C. y Matute, J. (2000).**Los métodos enzimáticos y su aplicación en muestras de semen como una contribución para la identificación de la autoría de un hecho punible**. Trabajo de grado, Instituto universitario de la policía científica, Caracas.
- García, F. (1994). **Estudio experimental de la detección del cinc en manchas de semen y su aplicación médico legal**. Trabajo de doctorado, Facultad de medicina de la universidad complutense de Madrid. Disponible:<http://www.eprints.ucm.es/tesis/19911996/d/0/d0046701.pdf> [Consulta: 2009, junio 28]
- García, J. (1982). **Manual de valores del laboratorio clínico en pediatría**. Caracas: Amon
- Gutiérrez, A. (1990). **Interpretación clínica del laboratorio**. Colombia: Medica panamericana.
- Geneser, F. (1984). **Histología**. Argentina: Médica Panamericana.

- Gisbert, J. (2005). **Tratado de Medicina legal y toxicología**. (6ª ed.) Buenos Aires: masson.
- Giugni, H. (2000). **Lecciones de medicina legal**. (8ª ed.) Venezuela: Vadell hermanos.
- Fernández, E. y Padula, R. (1983). **Tratado de criminalística**. Argentina: edición policial PTA.
- Hernández Nerea, J. (2007). **La criminalística no es sólo para acusar, es también para la defensa**. *Revista del Tribunal Supremo de Justicia*. [Revista en línea]. Disponible: <http://www.tsj.gov.ve/informacion/notas-deprensa/notasdeprensa..asp?codigo:5205.htm> [Consulta: 2008, Febrero 18]
- Ióvine, E. y Selva, A (1985). **Metodología analítica, fisiopatología e interpretación semiológica**. 3ª ed. Buenos aires: Médica panamericana.
- Kamoun, P. y Fréjaville, J.( 1981). **Guía de exámenes de laboratorio**. Barcelona: Salvat.
- Kalinov, A. (1975). **El laboratorio y su interpretación semiológica**. Buenos aires: Lopez librereros editores.
- Knight, B. (1999). **Manual moderno de medicina forense**. México: Simpson.
- Lencioni, L. (2002). **Los delitos sexuales, manual de investigación pericial para médicos y abogados**. México: Trillas.
- López, P. y Gomes P. (2003). **Investigación criminal y criminalística**. 2ª ed. Colombia : Temis.
- Moco, R., Pérez J., y Suárez A.(1991). **Ensayos cristalográficos de orientación en muestras de naturaleza seminal**. Trabajo de grado, Instituto universitario de la policía científica, Caracas.
- Montiel, J. (2005). **Manual de criminalística**. México: Limusa.
- Munrray, R. y Mayes, P. (2005). **Bioquímica de harper**. 16ª ed. Mexico: edición plaza.
- Organización Mundial de la Salud (1989). **Manual de laboratorio de la OMS para el examen del semen humano y de la interacción entre el semen y el moco cervical**. Buenos Aires: Mario Marino.
- Ramírez, T. (1999). **Cómo hacer un proyecto de investigación**. Caracas: Panapo.

- Ruiz, V. (2004). **El estudio de las agresiones sexuales en el laboratorio de biología [libro en línea]**. Instituto nacional de toxicología y ciencias forenses, departamento de Sevilla. Disponible: [http://cej.justicia.es/pdf/publicaciones/médicos\\_forenses/MEDI28.pdfhtm](http://cej.justicia.es/pdf/publicaciones/médicos_forenses/MEDI28.pdfhtm) [Consulta: 2008, Febrero 18]
- Pita, S. y Pértegas, S. (2002). **Metodología de la investigación**. Revista: Fistera.com, atención primaria en la red [Revista en línea], Disponible: [http://www.fistera.com/mbe/investiga/cuanti\\_cuali/cuanti\\_cuali.asp.htm](http://www.fistera.com/mbe/investiga/cuanti_cuali/cuanti_cuali.asp.htm) [Consulta: 2008, Mayo 24]
- Policía Técnica Judicial. **Revista del cuerpo de investigaciones científicas penales y criminalísticas**.(s.f.). PTJ: [Revista]. Caracas:PTJ.
- Sifontes, D. (1973). **Manual de criminalística**. Venezuela: Editorial Monte Avila.
- Statland, B. y Winkel P. (1982). **El laboratorio en las enfermedades malignas**. Buenos Aires: Médica panamericana.
- Stracuzzi, S. y Palella, F. (2003). **Metodología de la investigación cuantitativa**. Caracas: Fondo editorial de la Universidad Pedagógica Experimental Libertador.
- Universidad Pedagógica Experimental Libertador (2006). **Manual de trabajo de grado de especialización, maestrías y tesis doctorales**. Caracas: Maritza Barrios.
- Van Dalen D. y Meller W. (2006). Manual de la técnica de la investigación educacional. **[libro en línea]**. Noemágico, un lenguaje hacia otro entendimiento. Disponible: <http://www.noemagico.blogia.com/2006/092201-la-investigacion-experimental.php.htm> [Consulta: 2008, Agosto 06]
- Vargas, E. (2005). **Medicina legal**. México: Trillas.
- Wikimedia foundation, Inc. (2008). **Wikimedia la enciclopedia libre**. Revista:Wikimedia.org [Revista en línea], Disponible: <http://www.es.wikipedia.org/wiki/Concentraci%C3%B3n.htm> [Consulta: 2008, Agosto 01]
- Zárate, A. y Macgregor, C. (1987). **Manejo de la pareja estéril**. Mexico: Trillas.