



Universidad
Norbert Wiener

Universidad Privada Norbert Wiener

Escuela de Posgrado

**Análisis de perfiles genéticos mezcla y su aplicación en
evidencias forenses de violencia sexual de mujeres peruanas
en UNBIMOG 2019-2020**

**Tesis para optar el grado académico de Maestro en Ciencia
Criminalística**

Presentado por:

Bermejo Valladolid, Maria Estilita

Código ORCID: 0000-0002-1448-6924

Asesor: Mg. Henry Sam, Montellanos Cabrera

Código ORCID: 0000-0003-3834-3845

Lima – Peru

2022

Tesis

Análisis de perfiles genéticos mezcla y su aplicación en evidencias forenses de violencia sexual de mujeres peruanas en UNBIMOG 2019-2020

Línea de investigación:

Sociedad y transformación digital

Asesor:

Mg. HENRY SAM, MONTELLANOS CABRERA

<https://orcid.org/0000-0003-3834-3845>

DEDICATORIA

A Dios y a mi madre **Tomasa Valladolid**
Seminario que se fue al cielo de manera
inesperada en una época terrible de la humanidad,
ahora es mi ángel guardián.

Maria Estilita Bermejo Valladolid

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios sobre todas las cosas porque sé que nunca me abandona.

Agradezco al Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses por las facilidades brindadas en el desarrollo de la presente tesis.

Agradezco a mi familia: esposo, hijo, padre, hermanos y sobrinos por su comprensión y permitirme cumplir mis metas.

Agradezco a los profesionales colegas y compañeros de la UNBIMOG por sus recomendaciones.

Agradezco a mi Asesor. Mg. Henry Sam Montellanos Cabrera.

Agradezco a los expertos validadores de mi instrumento de Tesis: Dra. Mónica Chávez Padilla, Mg. Edgardo Delgado Ramos, Dr. David Neyra Rivera, Mg. Carmen Gonzales Calliri y Dra. María Meza Aragón

TABLA DE CONTENIDO

capítulo i: EL PROBLEMA	1
1.1. Planteamiento del problema	1
1.2. Formulación del problema	3
<i>1.2.1. Problema General:</i>	3
<i>1.2.2. Problemas Específicos:</i>	3
1.3. Objetivos de la investigación	4
<i>1.3.1. Objetivo General</i>	4
<i>1.3.2. Objetivos Específicos</i>	4
1.4. Justificación de la investigación	4
<i>1.4.1. Justificación teórica</i>	4
<i>1.4.2. Justificación práctica</i>	5
<i>1.4.3. Justificación metodológica</i>	6
1.5. Limitaciones de la investigación	6
<i>1.5.1. Temporal</i>	6
<i>1.5.2. Espacial</i>	6
<i>1.5.3. Población o unidad de análisis</i>	7
CAPITULO II: MARCO TEÓRICO	8
2.1. Antecedentes de la investigación	8
<i>2.1.1 Antecedentes internacionales</i>	8
<i>2.1.2. Antecedentes nacionales</i>	12
2.2. Bases teóricas	16
2.3. Formulación de hipótesis	1
<i>2.3.1 Hipótesis general</i>	1
<i>2.3.2 Hipótesis específicas</i>	1
CAPITULO III. METODOLOGIA	2
3.1. Método de la investigación	2
3.2. Enfoque de la investigación	2
3.3. Tipo de investigación	3
Nivel de la investigación	3
3.4. Diseño de la investigación	3

3.5. Población, muestra y muestreo	4
Muestra	5
<i>Criterios de inclusión y exclusión</i>	5
Muestreo.....	6
3.6. Variables y operacionalización	7
3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	14
3.7.1. Técnica.....	14
3.7.2. Descripción de instrumentos	23
3.7.3. Validación	25
3.7.4. Confiabilidad.....	26
3.8. Plan de procesamiento y análisis de datos	26
3.9. Aspectos éticos.....	27
CAPITULO IV: PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE LOS Resultados.....	29
4.1. Resultados	29
CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	61
5.1. Conclusiones	61
5.2. Recomendaciones	63
REFERENCIAS	65

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Matriz de consistencia	74
Anexo 2. Instrumento de recolección de los datos	77
Anexo 3. Validez del instrumento	80
Anexo 4. Certificados de validez	82
Anexo 5. Confiabilidad del instrumento	92
Anexo 6. Oficio de aprobación del Instituto de Medicina Legal Y ciencias Forenses para la recolección de datos	93
Anexo 7. Carta de aprobación del comité de ética	94
Anexo 8. Fotos del estudio	95

INDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1. Matriz de operacionalización variable 1.....</i>	¡Error! Marcador no definido.
<i>Tabla 2. Matriz de operacionalización variable 2.....</i>	¡Error! Marcador no definido.
<i>Tabla 3. Dilución seriada de estándares de Quantifiler™ Trio DNA.....</i>	16
<i>Tabla 4. Componentes del mix de reacción PCR Quantifiler™ Trio DNA.....</i>	16
<i>Tabla 5. Protocolo de ciclado Quantifiler™ Trio DNA.....</i>	16
<i>Tabla 6. Condiciones del mix de reacción PCR (STRs autosómicos)</i>	17
<i>Tabla 7. Protocolo de ciclado Investigator 24plex GO para sangre en FTA y papel filtro</i>	18
<i>Tabla 8. Protocolo de ciclado Investigator 24plex QS para muestras de evidencias de asalto sexual</i>	18
<i>Tabla 9. Mix de preparación para la electroforesis capilar</i>	19
<i>Tabla 10. Combinación genotípica y tipo de perfil genético mezcla.....</i>	35
<i>Tabla 11. Asociación de la combinación genotípica de la mezcla y el tipo de mezcla</i>	36
<i>Tabla 12. Perfil estocástico, inhibido y/o degradado y tipo de perfil genético mezcla.....</i>	37
<i>Tabla 13. Asociación del Perfil estocástico, inhibido y/o degradado y tipo de perfil genético mezcla.....</i>	37
<i>Tabla 14. Edad agraviada y casos por el número de agresor (es)</i>	41
<i>Tabla 15. Relación edad agraviada y casos por el número de agresor (es)</i>	42
<i>Tabla 16. Edad agresor (es) y casos por el número de agresor (es).....</i>	42
<i>Tabla 17. Relación edad agresor(es) y casos por el número de agresor (es)</i>	43
<i>Tabla 18. Preservación de la muestra y soporte de la muestra.....</i>	44
<i>Tabla 19. Relación preservación de la muestra y soporte de la muestra</i>	45
<i>Tabla 20. Cuantificación de ADN autosómico y Cuantificación del cromosoma Y</i>	46
<i>Tabla 21. Cuantificación de ADN autosómico y Cuantificación del cromosoma Y</i>	47
<i>Tabla 22. Asociación muestras críticas en el componente minoritario y cálculo de verosimilitud</i>	48

<i>Tabla 23. Relación parentesco biológico y casos según el número de agresor(es)</i>	49
<i>Tabla 24. Cálculo de índice de verosimilitud y comparación con muestras de referencia</i>	50
<i>Tabla 25. Relación cálculo de índice de verosimilitud y comparación con muestras de referencia</i>	51

INDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1. Representación de electroforesis capilar de los umbrales</i>	17
<i>Figura 2. Cálculo del umbral analítico (UA)</i>	18
<i>Figura 3. Representación heterocigótica del Umbral Estocástico (UE) frente al Umbral Analítico</i>	19
<i>Figura 4. Umbral analítico de perfiles genéticos</i>	30
<i>Figura 5. Umbral estocástico de perfiles genéticos</i>	30
<i>Figura 6. Stutter de perfiles genéticos</i>	31
<i>Figura 7. Balance de heterocigotos de perfiles genéticos</i>	32
<i>Figura 8. Proporción de contribuyentes de perfiles genéticos</i>	32
<i>Figura 9. Descarte de extra-bandas: stutter, N-bandas, tri-alelos</i>	33
<i>Figura 10. Descarte de Artefactos</i>	34
<i>Figura 11. Artefactos: Pull-up, droping, dye blob, spikes, OL</i>	34
<i>Figura 12. Descarte de contaminación</i>	35
<i>Figura 13. Umbrales generales y casos según el número de agresor (es)</i>	62
<i>Figura 14. Interpretación de perfiles mezcla y casos según el número de agresor (es)</i>	62
<i>Figura 15. Ubicación por departamento de las evidencias forenses y casos por el número de agresor (es)</i>	63
<i>Figura 16. Indicio biológico y soporte de la muestra</i>	66
<i>Figura 17. Muestras de referencia de la agraviadas(s) y casos según el número de agresor(es)</i>	45
<i>Figura 18. Muestras críticas en el componente minoritario y cálculo de verosimilitud</i>	70
<i>Figura 19. Parentesco biológico y casos según el número de agresor(es)</i>	71
<i>Figura 20. Cálculo de índice de verosimilitud y casos según el número de agresor(es)</i>	72
<i>Figura 21. Resultados de índice de verosimilitud y casos según el número de agresor(es)</i>	51

RESUMEN

Para el análisis de perfiles genéticos mezcla el objetivo del presente estudio fue aplicar criterios de interpretación del análisis de perfiles genéticos mezcla, en evidencias forenses de violencia sexual de mujeres peruanas, en la Unidad de Biología Molecular y Genética; 2019-2020. El diseño de la investigación es no experimental de tipo aplicada, transversal y descriptiva. Se analizaron 141 evidencias forenses de 36 casos de criminalística donde se pudo determinar que los perfiles genéticos cumplieron con los criterios de interpretación general de perfiles mezcla por lo que el 98% supero el umbral analítico (≥ 50 RFU), el 82% superó el umbral estocástico ($\geq 150-200$ RFU), el 60% superaron el umbral stutter ($\geq 10-15\%$ RFU), el 92% presentó desbalance de heterocigotos ($< 0,6$), la proporción de contribuyentes 0.1-1 fue distinguible en 62%, las extra-bandas reconocibles en 60% fueron los stutters, la presencia de artefactos genéticos fue en 44% y los perfiles estocásticos, degradados y/o inhibidos están relacionados con los tipos de perfiles mezcla. En los casos penales de un solo agresor cumplieron con los umbrales generales de recomendación científica, así mismo los perfiles mezcla fueron interpretables, los casos concluyentes fueron en 78 evidencias y los casos no concluyentes fueron en 13 evidencias. En los casos penales de múltiples agresores los perfiles genéticos mezcla cumplieron con los umbrales generales de recomendación científica, así mismo dichos perfiles fueron interpretables, los casos concluyentes fueron 41 evidencias y los casos no concluyentes 9 evidencias.

Palabras clave: perfiles mezcla, umbral analítico, umbral estocástico, umbral stutter, artefactos genéticos.

ABSTRACT

For the analysis of genetic mixture profiles, the objective of this study was to apply interpretation criteria of the analysis of genetic mixture profiles, in forensic evidence of sexual violence of Peruvian women, in the Molecular and Genetic Biology Unit; 2019-2020. The research design is non-experimental, applied, cross-sectional and descriptive. 141 forensic evidence from 36 criminalistics cases were analyzed where it was possible to determine that the genetic profiles met the criteria for general interpretation of mixed profiles, for which 98% exceeded the analytical threshold (≥ 50 RFU), 82% exceeded the threshold stochastic ($\geq 150-200$ RFU), 60% exceeded the stutter threshold ($\geq 10-15\%$ RFU), 92% presented heterozygote imbalance (< 0.6), the proportion of contributors 0.1-1 was distinguishable in 62 %, the extra-bands recognizable in 60% were the stutters, the presence of genetic artifacts was in 44% and the stochastic, degraded and/or inhibited profiles are related to the types of mixture profiles. In the criminal cases of a single aggressor, they met the general thresholds of scientific recommendation, likewise the mixed profiles were interpretable, the conclusive cases were in 78 pieces of evidence and the inconclusive cases were in 13 pieces of evidence. In the criminal cases of multiple aggressors, the mixed profiles met the general thresholds of scientific recommendation, likewise these profiles were interpretable, the conclusive cases were 41 pieces of evidence and the inconclusive cases were 9 pieces of evidence.

Keywords: mixing profiles, analytical threshold, stochastic threshold, stutter threshold, genetic artifacts.

INTRODUCCIÓN

La interpretación de perfiles genéticos mezcla es compleja, por lo que en la Unidad de Biología Molecular y Genética el analista aplica umbrales generales de recomendación de la comunidad científica, no obstante, se deben establecer criterios de interpretación de los perfiles para valorar así los perfiles mezcla, es así que en esta investigación tiene como objetivo aplicar criterios de interpretación del análisis de perfiles genéticos mezcla, en evidencias forenses de violencia sexual de mujeres peruanas, en la Unidad de Biología Molecular y Genética; 2019-2020, debido a que dicho análisis es clave para los laboratorios de genética forense que permitirá al laboratorio aplicar criterios de interpretación y al fortalecimiento para una óptima calidad de los resultados en el laboratorio de UNBIMOG con miras a un proceso de validación interna de los umbrales de análisis e implementación ISO 17025, a su vez permitirá a las autoridades, recibir pericias sometidas a criterios recomendados por la comunidad científica que les sirva de herramienta en la resolución de la casuística forense delictiva de violencia sexual en apoyo a la administración de justicia. A nivel internacional existen recomendaciones de comisiones en análisis de perfiles mezcla Crespillo, et al (2014), Barrio, et al (2018), procesos de validación de kits Purps, et al (2015), Kraemer, et al (2017), análisis de resultados de control de calidad Zelaya, et al (2017), en cuanto a las evidencias existe una relación entre el perfil genético y la conservación de las muestras Valdés, (2019), además no es posible establecer el número de contribuyentes en casos donde hay más de 3 agresores Dembinski, et al (2018). A nivel nacional un estudio indica que las pericias influyen en la investigación de los delitos de violación sexual Palomino, (2018), donde la prueba de ADN es de considerable importancia para la administración de justicia Avellaneda, (2018), así como estudios de evidencias forenses de violencia sexual con técnicas de biología forense Martínez, (2018), García, (2019), estudio de

marcadores genéticos Delgado, (2019) y las causas de no obtención de perfil genético, Gutiérrez, (2020).

La investigación es transversal, descriptiva, no experimental donde se describe dos variables: el análisis de perfiles mezcla y evidencias forenses de violencia sexual, el estudio se realizó en 141 evidencias correspondientes a 36 casos criminalísticos del periodo 2019-2020 procedentes de Ancash, Apurímac, Arequipa, Ayacucho, Cusco, Huánuco, Ica, Junín, Lima, Madre de Dios, Puno y Ucayali. Las evidencias pasaron por procesos de pretratamiento, extracción de ADN, cuantificación de ADN, amplificación, electroforesis capilar, análisis de perfiles y cálculos probabilísticos en caso aplique.

Se observó que los perfiles obtenidas de las evidencias forenses cumplen con los criterios de interpretación general de perfiles mezcla como es superar los valores de umbrales generales de recomendación, distinguir la proporción de contribuyentes, descarte de extra-bandas y artefactos genéticos, detección de perfiles estocásticos, degradados y/o inhibidos y los tipos de perfiles mezcla. Tanto para los casos con agresor único y los casos con múltiples agresores cumplen con los umbrales generales y es interpretable los perfiles mezcla, así mismo se obtuvo casos concluyentes como son inclusión y/o exclusión.

CAPITULO I: EL PROBLEMA

1.1. Planteamiento del problema

La genética forense es una disciplina científica que desde hace 2 décadas detecta marcadores genéticos STRs (Short Tandem Repeats) autosómicos de ADN como procedimiento de rutina en la identificación individual en hechos delictivos (Comisión Nacional para el Uso Forense del ADN, 2019). La interpretación y análisis de los perfiles genéticos evolucionan continuamente en niveles de estandarización técnica (Miozzo, 2019), estos aspectos son un reto para la comunidad forense internacional como es el análisis y valoración de los perfiles genéticos mezcla (Roberts, 2018). Distintas comisiones de trabajo científico y equipos de estandarización han establecido recomendaciones y guías que permiten analizar los perfiles genéticos mezcla, como son las emitidas por: *International Society for Forensic Genetics (ISFG)*, *Scientific Working Group DNA Analysis Methods (SWGDM)*, *Technical UK DNA Working Group*, *German Stain Commission* y *National Institute of Standards and Technology (NIST)* (Schneider y Carracedo, 2006; SWGDAM, 2016; Buckleton et al, 2018).

Los procesos del laboratorio, los equipos y reactivos empleados, los programas informáticos, y las decisiones en los procedimientos de trabajo del laboratorio hacen que la interpretación de un perfil mezcla pueda ser realizada de diferentes formas (Conway, 2017), además se dificulta más cuando existe mayor número de agresores (Slooten y Caliebe, 2018) es

así que el Grupo de habla española y portuguesa de la ISFG (GHEP-ISFG) organiza ejercicios inter-laboratorios donde exponen en congresos científicos la variabilidad de resultados que obtienen los laboratorios al momento de interpretar los perfiles genéticos mezcla para establecer los límites de calidad en la valoración de dichos perfiles, así como la definición de criterios únicos y objetivos que ayudan a su validación (Barrio et al, 2018; Crespillo et al, 2014). Siguiendo la línea de estos grupos científicos países de América están a la vanguardia porque han validado sus procedimientos (Zelaya et al, 2017; Boavida, 2017).

En Perú, los laboratorios del Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses (IMLYCF) del Ministerio Público y de la Policía Nacional del Perú, realizan estudios de ADN por lo que en su casuística procesan muestras forenses en el contexto de un proceso penal (Delgado, 2019; Bermejo et al, 2022), las mismas que pueden contener una mezcla de tejidos o fluidos biológicos de más de una persona, como consecuencia del delito ocasionado. En el laboratorio de la Unidad de Biología Molecular y Genética (UNBIMOG) del IMLYCF, de Lima – Perú, el análisis de los perfiles genéticos el cual es el último paso del proceso analítico, es realizado por un especialista analista que interpreta los perfiles en base a su experiencia, apoyándose de criterios generales de interpretación de perfiles mezcla, no obstante, dicha interpretación es compleja y, podría llevarlo a una opinión subjetiva. Por lo que la interpretación de perfiles mezcla a partir de muestras de violencia sexual, implica criterio y experiencia profesional, no obstante es importante establecer criterios mínimos para la interpretación a partir de recomendaciones aceptados por la comunidad científica cuando no se cuenta aún con un proceso de validación que garanticen la certeza y fiabilidad de los resultados de la pericia, como instrumento para la impartición de justicia lo cual es muy importante (Avellaneda, 2018) y con miras a una validación interna y acreditación ISO 17025.

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema General:

¿Se cumple con los criterios de análisis de perfiles genéticos mezcla, en las evidencias forenses de violencia sexual de mujeres peruanas, en la Unidad de Biología Molecular y Genética de Lima; 2019-2020?

1.2.2. Problemas Específicos:

- 1) ¿Se cumple con la aplicación de los umbrales generales en el análisis de perfiles genéticos mezcla en evidencias forenses en casos penales de violencia sexual de un solo agresor de mujeres peruanas, en la Unidad de Biología Molecular y Genética; 2019-2020?
- 2) ¿Se cumple con la aplicación de los umbrales generales en el análisis de perfiles genéticos mezcla para su aplicación en evidencias forenses de violencia sexual en casos penales por múltiples agresores de mujeres peruanas, en la Unidad de Biología Molecular y Genética; 2019-2020?
- 3) ¿Es clara la interpretación de perfiles genéticos mezcla para su aplicación en evidencias forenses de violencia sexual en casos penales de un solo agresor de mujeres peruanas, en la Unidad de Biología Molecular y Genética; 2019-2020?
- 4) ¿Es clara la interpretación de perfiles genéticos mezcla para su aplicación en evidencias forenses de violencia sexual en casos penales por múltiples agresores de mujeres peruanas, en la Unidad de Biología Molecular y Genética; 2019-2020?

1.3. Objetivos de la investigación

1.3.1. Objetivo General

Aplicar criterios de interpretación del análisis de perfiles genéticos mezcla, en evidencias forenses de violencia sexual de mujeres peruanas, en la Unidad de Biología Molecular y Genética; 2019-2020.

1.3.2. Objetivos Específicos

- 1) Aplicar los umbrales generales en el análisis de perfiles genéticos mezcla para su aplicación en evidencias forenses de violencia sexual en casos penales de un solo agresor de mujeres peruanas, en la Unidad de Biología Molecular y Genética; 2019-2020.
- 2) Aplicar los umbrales generales en el análisis de perfiles genéticos mezcla para su aplicación en evidencias forenses de violencia sexual en casos penales por múltiples agresores de mujeres peruanas, en la Unidad de Biología Molecular y Genética; 2019-2020.
- 3) Interpretar los perfiles genéticos mezcla para su aplicación en evidencias forenses de violencia sexual en casos penales de un solo agresor de mujeres peruanas, en la Unidad de Biología Molecular y Genética; 2019-2020.
- 4) Interpretar los perfiles genéticos mezcla para su aplicación en evidencias forenses de violencia sexual en casos penales por múltiples agresores de mujeres peruanas, en la Unidad de Biología Molecular y Genética; 2019-2020.

1.4. Justificación de la investigación

1.4.1. Justificación teórica

Debido a que actualmente el análisis de perfiles genéticos en muestras forenses es una herramienta de gran trascendencia en muchos procesos judiciales civil o penal, siendo desde hace

dos décadas aceptada por los tribunales de justicia a nivel mundial (Butler, 2006; Carracedo y Prieto, 2014; (Avellaneda, 2018).

Así mismo, en la casuística de la Unidad de Biología Molecular y Genética (UNBIMOG) del Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses se solicita de manera recurrente la prueba de ADN, en muestras forenses, entre ellas las de violencia sexual a fin de obtener perfiles genéticos y donde es usual encontrar una mezcla de fluidos o tejidos en los indicios o evidencias que son remitidas al laboratorio, obteniendo a su vez perfiles genéticos STR mezcla (perfil de más de 01 individuo), pero el análisis de perfiles mezcla es controversial y de constante debate en la comunidad forense (Benschop et al, 2013).

Siendo el análisis de perfiles genéticos clave para los laboratorios de genética forense con la investigación se establecerá un procedimiento de interpretación de perfiles mezclas de acuerdo a parámetros de recomendación por la comunidad científica, quienes establecen que los laboratorios de ADN, deben validar de manera interna los análisis de perfiles mezcla de las muestras forenses de acuerdo a su realidad (SWGDM, 2016).

1.4.2. Justificación práctica

Mediante los resultados de este trabajo se permitirá al laboratorio de la Unidad de Biología Molecular y Genética (UNBIMOG) del Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses (IMLYCF), establecer una adecuada interpretación de análisis de perfiles genéticos mezcla en evidencias forenses de violencia sexual de mujeres peruanas, mediante aplicación de criterios generales para los peritos de Genética forense y al fortalecimiento de la interpretación para una óptima calidad de los resultados en el laboratorio de UNBIMOG con miras a su vez a un proceso de validación interna e implementación ISO 17025.

1.4.3. Justificación metodológica

Se utilizó un formulario o lista de cotejo que permite recabar la información del análisis de perfiles genéticos en las evidencias de violencia sexual como es la aplicación de umbrales generales establecidos por la comunidad científica y para la interpretación de los perfiles genéticos mezcla, basado en el análisis de dichos perfiles y establecer así un mejor diseño ajustado a las particularidades y necesidades del laboratorio, y que sirva de herramienta para la labor diaria del laboratorio cuando se tenga que interpretar un perfil mezcla para una mejor toma de decisiones y posterior emisión de los resultados.

Siendo este procedimiento parte de las técnicas de la ciencia criminalística, este proyecto permitirá a las autoridades, recibir pericias sometidas a criterios recomendados por la comunidad científica que les sirva de herramienta en la resolución de la casuística forense delictiva de violencia sexual en apoyo a la administración de justicia.

1.5. Limitaciones de la investigación

1.5.1. Temporal

El período inestable de confinamiento debido a la pandemia COVID 19, por lo que no es posible asistir diariamente al laboratorio, generando que el acceso al laboratorio sea limitado.

Escasos estudios similares con una antigüedad no mayor de 5 años y realizados en el Perú, debido a que laboratorios de Genética Forense de otros países se encuentran en etapas más avanzadas.

1.5.2. Espacial

Banco de perfiles genéticos incompletos y no actualizados, del área de perfiles genéticos.

La limitación a las facilidades otorgadas por las autoridades para acceder a la información de los perfiles genéticos de la data, de corridas del equipo analizador genético.

1.5.3. Población o unidad de análisis

La falta de presupuesto en la Unidad de Biología Molecular y Genética para la compra oportuna de insumos y reactivos.

La falta de actualización de los registros en el procesamiento de muestras en las diferentes fases de procesamiento.

CAPITULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la investigación

2.1.1 *Antecedentes internacionales*

Crespillo, et al. (2014). En su investigación a través del Grupo de habla hispana y portuguesa de la Sociedad Internacional de Genética Forense (GHEP-ISFG) tuvieron el objetivo de difundir y contribuir al desarrollo y difusión de los conocimientos científicos en genética forense por medio de las comisiones donde se desarrollan actividades de aspectos científicos como es la Comisión de Mezcla del GHEP-ISFG, sobre análisis e interpretación de perfiles genéticos STRs mezcla, donde participaron 43 laboratorios miembros del GHEP-ISFG de 12 países diferentes (España, Portugal, Costa Rica, Brasil, Argentina, Uruguay, Ecuador, Colombia, Chile, Italia, Francia y Venezuela) en 3 ediciones, donde se analizó 9 muestras para lo cual, las mezclas se prepararon artificialmente de muestras del epitelio bucal. Concluyeron que los datos muestran una mayor tendencia de los laboratorios hacia la validación del análisis de perfiles mezcla de ADN siguiendo las recomendaciones internacionales (ISO/IEC 17025: 2005), la mayoría de las discrepancias se encuentran principalmente en las posiciones de artefactos sttuter, y la importancia de realizar análisis duplicados con diferentes kits para reducir al máximo los errores y en el aspecto estadístico los participantes emplean el parámetro de razón de verosimilitud (LR).

Purps, et al. (2015). Validaron la aplicación combinada de marcadores STR autosómico / Cromosoma Y, en manchas biológicas típicas en casos de agresión sexual. El cual es un estudio de caso retrospectivo, donde se revisó 287 casos con 2077 tinciones para analizar 39 marcadores STR's y 17 marcadores Y-STRs durante un periodo de 30 meses. Se aplicó técnicas de PCR y electroforesis capilar, con los resultados obtenidos indican que el análisis Y-STRs agregó hasta un 21% de perfiles adicionales altamente informativos al conjunto de perfiles STRs autosómicos para las manchas en casos de agresión sexual. Concluyendo que la detección de los múltiples contribuyentes masculinos fue aproximadamente tres veces más probable con el perfil del cromosoma Y, que con el perfil STR autosómico y uno de diez casos no habría sido concluyente sin un análisis Y-STR en paralelo.

Kraemer, et al. (2017). En su investigación validaron el kit Investigator® 24plex QS Kit e Investigator® 24plex GO que son dos ensayos multiplex de 6 colores que se constituyen en 23 marcadores loci STRs centrales del CODIS. Trabajaron con muestras de referencia de donantes anónimos (sangre, saliva, hisopado bucal), y se realizó procesos de extracción del ADN, cuantificación, amplificación por PCR y electroforesis capilar, además se crearon mezclas artificiales con el control de ADN 9948 de concentración conocida y XX107 en los rangos: 1:1, 3:1, 7:1, 10:1, 15:1 y viceversa. Los resultados de este estudio siguieron las recomendaciones de la Red Europea de Institutos de Ciencias Forenses (ENFSI) y las Directrices de Validación del Grupo de Trabajo Científico sobre Métodos de Análisis de ADN (SWGDM). Los datos de inclusión fueron para los procedimientos basados en PCR, por ejemplo: condiciones de reacción, efectos de variaciones de temperatura de PCR, ciclos de amplificación, sensibilidad, rendimiento con inhibición simulada, estabilidad y eficiencia, precisión, reproducibilidad, y estudio de mezcla, concordancia, tartamudeo (stutter), especificidad de especie. El resultado de la

validación concluye que se demuestra que los kits Investigator 24plex QS e Investigator 24plex GO son ensayos de identificación robustos y confiables, según se requiere para la tipificación de ADN forense en el análisis de casos forenses y de base de datos.

Zelaya, et al. (2017). En su artículo “Resultados del ejercicio de control de calidad de la Sociedad Latinoamericana de Genética Forense, 2016-2017” tuvo como objetivo validar de manera interna, métodos y análisis en muestras complejas como son las mezclas de los perfiles genéticos mediante ejercicios de control de calidad, donde participaron laboratorios de genética forense de Latinoamérica, el cual fue organizado por la Sociedad Latinoamericana de Genética Forense. Se trata de un estudio experimental, de corte transversal y correlacional. Participaron 29 laboratorios (06 de México, 18 de Centroamérica y 18 de Suramérica), quienes usaron entre 14 y 29 marcadores, a estos laboratorios les fue remitido 04 muestras humanas, y muestras simuladas de asalto sexual en proporción 2:1, una muestra dubitada de sangre, 1 fragmento de resto óseo (no tenía relación al caso de ataque sexual), donde los participantes genotipificaron las muestras y debían informar la metodología que usaron, los reactivos y resolver el ejercicio e incluir los cálculos probabilísticos de ser necesario. Concluyeron que el análisis de las mezclas siguen siendo un asunto importante a fortalecer en los laboratorios de genética forense, así como promover procesos de estandarización y validación interna, a pesar que existen estudios que otorgan recomendaciones para la interpretación de las mezclas, los laboratorios valoran más la interpretación de acuerdo a los electroferogramas y al análisis estadístico, dando poca importancia a la validación de los procesos de cuantificación y extracción los cuales son importantes para la recuperación de perfiles mezcla.

Valdés, (2019). En su tesis “La implicancia de la calidad de las muestras de ácido desoxirribonucleico con relación a la obtención de patrón genético”. Tuvo como objetivo realizar

una investigación sobre la frecuencia de obtención de perfiles genéticos respecto de la calidad de las muestras. Para ello se realizó un estudio descriptivo y retrospectivo en base a 86 requerimientos de pruebas de ADN que son solicitadas por los tribunales de Rosario, en el periodo de enero a julio del 2017. Los resultados y conclusiones consistieron en: los requerimientos para prueba de ADN en el Instituto de Medicina Legal de Rosario de un total de 86 solicitudes para prueba de ADN la mayoría correspondían a abuso sexual, de un total de 304 muestras el 37,25 % correspondían a muestras de agresiones sexuales y más de la mitad de muestras se encontraban en buen estado de conservación, es decir un 40 % no se encontraba en buen estado y el patrón genético se determinó en un 65,78 % de los requerimientos solicitados. Por tanto, se encontró relación altamente significativa entre la obtención de perfil genético y el óptimo estado de conservación de las muestras.

Barrio, et al. (2018). En su artículo “GHEP-ISFG collaborative exercise on mixture profiles (GHEP-MIX06). Reporting conclusions: Results and evaluation” tuvo como objetivo promover y contribuir al desarrollo y difusión del conocimiento científico en el campo de la genética forense. El estudio estuvo a cargo de la comisión de mezclas del GHEP-ISFG, quienes elaboraron un ejercicio colaborativo de análisis e interpretación de mezclas autosómicas STRS desde el 2009, con la participación de 25 laboratorios, los resultados fueron recopilados mediante informes a partir de propuestas de casos simulados. Una de las conclusiones más saltantes es la creciente tendencia de los laboratorios participantes a validar el análisis de los perfiles de ADN mezclas siguiendo las recomendaciones internacionales.

Dembinski, et al. (2018). En su artículo tuvo como objetivo determinar el número de contribuyentes, de perfiles mezcla teóricos basados en el conteo de alelos: con la interrogante ¿el aumento del número de loci aumenta la tasa de éxito de las estimaciones? En este trabajo se

generaron 4 976 355 combinaciones de mezclas teóricas con el sistema PowerPlex® Fusion 6C que incluye 23 loci STR autosómicos y tres loci Y-STR. El número de los contribuyentes se pudo suponer correctamente para mezclas al 100% de dos personas y 99,99% de tres personas, mientras que, las mezclas de cuatro, cinco y seis personas en el 89,7%, 57,3% y 7,8% de las mezclas, respectivamente. El análisis Y-STR mostró que los 3 marcadores Y-STR solo son precisos para mezclas masculinas de dos personas (96,7%). Así concluyeron que el trabajo demuestra que el recuento máximo de alelos utilizando los loci centrales de EE.UU, no mejora mucho con respecto a los paneles más pequeños, por lo que ese método, no es tan preciso más allá de los tres contribuyentes.

2.1.2. Antecedentes nacionales

Palomino, (2018). En su tesis “Pruebas periciales del delito de violación sexual aportadas por la Dirección de Criminalística – Policía Nacional del Perú, Lima 2017” tuvo como objetivo determinar cómo las pruebas periciales realizadas por el laboratorio de criminalística de la Policía Nacional del Perú tienen influencia en el esclarecimiento de delitos de violencia sexual. Es una investigación de tipo cualitativa y el diseño la teoría fundamentada, con uso de la herramienta: entrevista aplicada a especialistas entre magistrados, fiscales y peritos oficiales de la Policía Nacional y el análisis documental. Se concluyó que las pericias, influyen en la investigación de los delitos de violación sexual.

Avellaneda, (2018). En su trabajo de tesis tuvo como objetivo “La importancia de la prueba del ADN en los procesos penales en el distrito judicial de Chiclayo”. Se trata de un estudio de diseño transversal: descriptivo simple, donde la población y muestra es conformada por 15 juzgados penales del distrito judicial de Chiclayo. Se empleó como instrumento una ficha de análisis mediante un cuestionario de preguntas en función al problema planteado del uso de la

prueba penal para determinar la causa penal. Se concluyó que la prueba de ADN es de considerable importancia para la administración de justicia, debido a que determina la culpabilidad de los involucrados, son pocos los abogados que fomentan la prueba de ADN por los costos o por desconocimiento, además falta capacitación y equipos adecuados.

Martínez, (2018). En su tesis “Estudio de la persistencia de espermatozoides en fondo vaginal de mujeres víctimas de violación sexual peritadas en la DML de Arequipa-2015”. Tuvo como objetivo estudiar el tiempo en que permanecen los espermatozoides en el fondo vaginal de mujeres que han sido víctimas de violación sexual. En el estudio trabajaron con muestras de hisopados del fondo vaginal de mujeres víctimas de agresión sexual para luego utilizar los datos como indicadores de la permanencia de los espermatozoides, así como la aproximación más cercana a los hechos del delito, tomaron en cuenta las horas transcurridas desde en que ocurrieron los hechos del delito. Se aplicó el método de análisis espermatoológico que se utilizan en los laboratorios de Biología forense. Las conclusiones fueron que los espermatozoides disminuyen con el tiempo y se considera que será de utilidad en la resolución de casos de violación sexual y se espera que sea validado para mejor herramienta en apoyo a la justicia.

García, (2019). En su tesis tiene como objetivo “Aplicación de las técnicas de la Inmunocitoquímica PSA y Citoquímica PAS para el reconocimiento e identificación de espermatozoides en muestras forenses por violencia sexual en el Hospital Nacional Alberto Sabogal Soleguren, 2017”. Se trata de una investigación aplicada de diseño no experimental de nivel correlacional a partir de 2 instrumentos como la inmunocitoquímica PSA y citoquímica PAS, así mismo la investigación se encuentra constituida por 87 muestras forenses, donde las láminas positivas validada por expertos y fueron procesadas para inmunocitoquímica PSA y citoquímica PAS. Se concluye que la investigación es proporcional con las técnicas de

reconocimiento de espermatozoides en las muestras forenses relacionadas a violencia sexual con una mayor sensibilidad y especificidad, además en menor tiempo y sirve de apoyo a la labor pericial.

Delgado, (2019). En su tesis tuvo el objetivo de “Caracterizar 21 marcadores STR autosómicos en una población peruana inmersa en un proceso judicial aplicado a la práctica forense”. Estudio experimental, transversal y correlacional realizado en una población mestiza peruana de 300 individuos, en muestras sanguíneas remitidas al laboratorio de la Unidad de Biología Molecular y Genética del IMLYCF para el análisis de la prueba de ADN, donde se determinó los parámetros forenses. Concluyó que la población peruana posee alelos que no posee la población hispana y además existe diferencia significativa entre los cálculos con frecuencia hispana y los cálculos con frecuencia peruana.

Gutiérrez, (2020). En su tesis “Perfiles genéticos con ADN crítico en muestras biológicas”. Tuvo como objetivo determinar en qué medida la obtención del perfil genético se encuentra relacionado con el ADN crítico en las muestras biológicas que son remitidas para la prueba de ADN. Los datos fueron recopilados por una ficha de recolección de datos, donde eligieron de manera aleatoria 260 muestras para el estudio para determinar frecuencias que indiquen la existencia o no de las variables. Se determinó que en 50 muestras se obtuvieron perfiles genéticos completos y en las 210 muestras restantes se halló condiciones críticas de las muestras propias del ADN, de las cuales en 170 no se logró amplificar ADN donde se atribuye a la ausencia de material genético, mientras que en 161 muestras la no amplificación se debió a la escasez del material genético. Por tanto, concluyó que la presencia de inhibidores fue la causante de la no amplificación en 163 muestras con ADN crítico, así como los índices de degradación en 25 muestras biológicas ocasionaron la obtención de perfiles genéticos parciales.

Bases legales

- Constitución Política Del Perú (1993)
- Ley N° 24128. “Ley de creación del Instituto de Medicina Legal”.
- Resolución de Fiscalía de la Nación N° 1430-2012-MP-FN, que aprueba “La guía de evaluación física de la integridad sexual”.
- Ley N° 30364. “Ley que previene, sanciona y erradica la violencia contra las mujeres y los integrantes del grupo familiar”.
- Ley 29733. “Ley de protección de datos personales”.
- Ley 27115. “Ley que establece la acción penal pública en los delitos contra la libertad sexual.”
- Decreto Legislativo N° 635, Código Penal.
- Decreto Legislativo N° 957, Nuevo Código Procesal Penal.
- Ley N° 26842. “Ley General de Salud y sus modificatorias”.
- Resolución de Fiscalía de la Nación N° 619-2010-MP-FN, que aprueba la “Directiva Específica que Regula La Organización y el Funcionamiento De La Red Nacional De Servicios De Laboratorios De Biología Molecular y De Genética”.
- Resolución de Fiscalía de la Nación N° 0620-2010-MP-FN. “Guía de Procedimientos para la Toma de Muestras de Sangre e Hisopado Bucal en Tarjeta FTA para la prueba de ADN”.
- Resolución de Fiscalía de la Nación N° 291-2018-MP-FN, que aprueba el Manual de procedimientos “Remisión de muestras para pruebas de ADN: Casos de Criminalística e identificación de desaparecidos”.

- Resolución N° 729-2006-MP-FN. “Reglamento de la Cadena de Custodia de Elementos Materiales, Evidencias y Administración de Bienes Incautados”.
- Resolución de Fiscalía de la Nación N° 1430-2012-MP-FN, que aprueba la “Guía de evaluación física de la integridad sexual”.

2.2. Bases teóricas

Perfiles genéticos mezcla

Un perfil genético mezcla, es el hallazgo de más de 02 perfiles genéticos de individuos contribuyentes en una muestra por lo general de la agraviada y el agresor en los casos de agresión sexual. (Miozzo, 2019).

Por lo que existen recomendaciones internacionales, donde se definen una serie de pasos para la adecuada interpretación de dichos perfiles (Clayton et al, 1998; Benschop y Sijen, 2013; Buckleton et al, 2018).

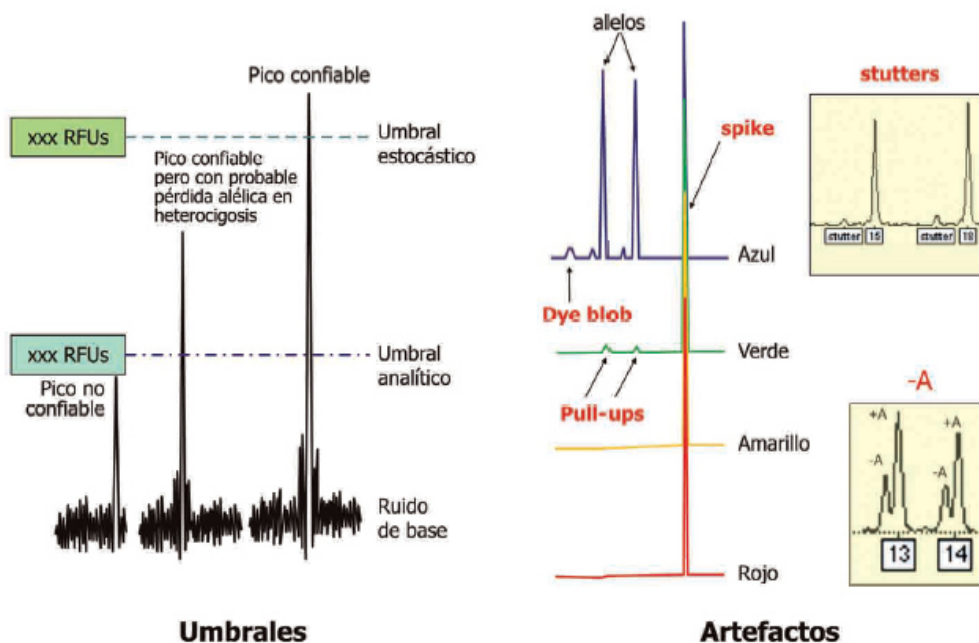
Umbral de perfiles genéticos

A. Umbral de Decisión

Para la técnica analítica de análisis de perfiles genéticos existen umbrales que se deben establecer para la interpretación en el análisis y la asignación alélica (ver figura 1). Dichos umbrales se definen de acuerdo a recomendaciones general o de manera ideal mediante una validación interna y se mencionan a continuación:

Figura 1.

Representación de electroforesis capilar de los umbrales



Nota: Esta figura muestra los umbrales analítico y estocástico en RFU (Unidades Relativas De Fluorescencia), así como de los artefactos comunes del análisis de perfiles genéticos.

Fuente: Miozzo (2019).

- Umbral Analítico (UA)

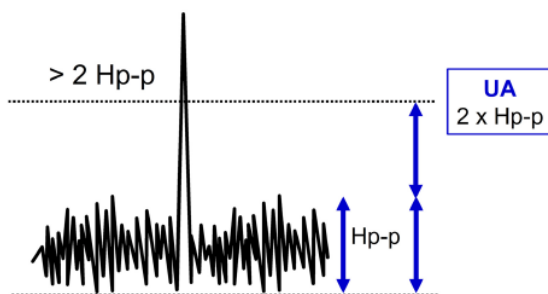
Es el valor en Unidades Relativas De Fluorescencia (RFUs), umbral que permite distinguir los picos verdaderos o alelos del ruido de fondo (Butler, 2006), una vez que se introduce este valor, el software del análisis solo determinará como picos (probables alelos) a aquellos valores por encima de este valor sería realmente un amplificado de PCR generando confianza para asegurarlo (Budowle et al., 2009).

En particular, nos permite discriminar entre lo que sería un pico y el ruido de base, siendo dependiente de las condiciones y de los sistemas analíticos en la propia realidad del laboratorio. (Crespillo et al., 2014).

En la figura 2, se explica la forma de determinar el cálculo en el caso de una validación, donde este umbral según SWGDAM, 2010 “sería dos veces la diferencia de la intensidad del pico más alto y la línea de base del ruido de fondo”. Además, Grgicak, 2010 recomienda, “emplear la sistemática adecuada, y aplicación de los análisis estadísticos adecuados para su corrección como son los análisis de valores atípicos u outlier”.

Figura 2.

Cálculo del umbral analítico (UA)



Nota. La figura nos muestra Hp: pico más alto, p: pico más bajo del ruido de fondo. Pico alélico: $>2 \text{ Hp.p}$.

Fuente: Crespillo et al., (2012).

- Umbral Estocástico (UE)

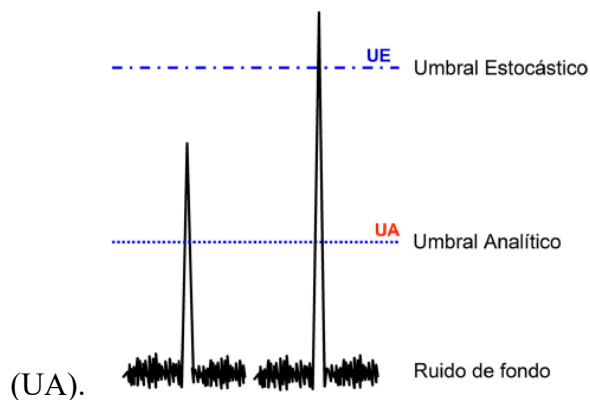
Este umbral se denomina Match Interpretation Threshold (MIT) y permite al laboratorio asegurarse que no existan pérdidas alélicas o drop-outs en los genotipos heterocigotos, ver figura 3 y por ello, se asume que, a la existencia de un solo alelo se le debe considerar como genotipo homocigoto de un perfil de fuente única (Crespillo et al., 2012).

En perfiles mezcla en cantidades mínimas de ADN puede derivar a la aparición de fenómenos estocásticos como el desbalanceo alélico hasta la pérdida alélica, que podría ocasionar una mala interpretación final del resultado. Por ello se requiere establecer un valor umbral que ofrezca confianza ante estos efectos estocásticos (Budowle et al., 2009). Así, también se entiende como los niveles de ADN por debajo, donde un perfil genético podría mostrar picos en desequilibrio con respecto a la altura en RFUs de los picos por debajo del 60% (Butler, 2006; Bregu et al., 2013).

Para Butler (2006), este valor se encuentra entre 150 -200 RFUs. Asimismo, el nivel de ADN por debajo de ese valor, el perfil podría mostrar picos en desequilibrio, es decir la relación de la altura de los picos que son inferiores al 0,6.

Figura 3.

Representación heterocigótica del Umbral Estocástico (UE) frente al Umbral Analítico



Fuente: Crespillo et al., (2012).

Hay 2 opciones de cálculo: se puede tomar el valor del alelo mayor en RFUs donde, en los marcadores de los alelos heterocigotos no existiría pérdida alélica o drop-out alélico. (SWGDM, 2010), o se considera la altura máxima del alelo compañero en RFUs en caso de drop-out o alelo ausente (Gill et al., 2008).

- Umbral “stutter” (US)

Es el valor en porcentaje (%), respecto del alelo principal, de un pico en su posición *stutter* (picos de repetición que se producen por pérdida o ganancia de una o dos repeticiones completas durante la replicación del proceso de PCR) por encima de dicho umbral debe aceptarse como alelo. De otro modo, un valor del pico por debajo del umbral en posición *stutter*, no debe ser asignado por el software del análisis de perfiles genéticos (Crespillo et al., 2012).

- Umbral “Balance de heterocigotos” (UB)

Es el valor en porcentaje (%) de la relación, del área o altura, entre el pico alélico mayor y el menor de un marcador heterocigoto, en muestras de referencia (fuente única), por lo que debajo de ello se considera que existe desbalance entre los alelos (Crespillo et al., 2012).

La SWGDAM (2010) estableció que la “proporción de la altura de pico” de las siglas en inglés PHR (Peak Height) viene a ser un término similar al de “desequilibrio de heterocigotos” o “equilibrio de heterocigotos” de las siglas Hb (heterozigote balance) (Butler, 2005^a; Gill et al., 2006). Donde lo más acorde sería utilizar el término desequilibrio, porque se observaría desproporción que habría entre el área o la altura de los picos alélicos de un genotipo heterocigoto. El balance del genotipo heterocigoto es relevante para reconocer si un perfil es mezcla o no, así como su valoración. Generalmente se acepta, que, en los perfiles únicos, es decir de un solo individuo, en una cantidad de ADN mayor a 200 pg, de concentración de ADN dicho umbral se encuentra por encima de 0,6 generalmente (Butler, 2005a).

El cálculo del umbral del ratio PHR (UB), se define como el cociente entre el área sobre la altura del pico de menor altura (RFU) y el área sobre la altura del pico más alto

(RFU), luego se multiplica por 100, expresándolo en porcentaje. Dichos resultados obtenidos para el UB, cada laboratorio debería calcular dicho umbral (Word, 2010^a).

El umbral se puede valorar, al igual que en el caso de los otros umbrales, como la media de PHR del total de las muestras menos 3 veces la desviación estándar. Así mismo, se realizará la valoración del umbral UB, tanto por locus del marcador. (SWGDM, 2010).

- Umbral “Proporción de contribuyentes”

La proporción del número de contribuyentes en una mezcla se representa como mixture ratio o rango de la mezcla, la cual, es la proporción relativa y aproximada de la cantidad de ADN de los individuos que contribuyeron en el perfil genético mezcla obtenido, y se determina por la información de la altura del pico alélico de manera cuantitativa, que también se puede expresar como porcentaje. Por recomendaciones de SWGDAM (2010) donde señala que los laboratorios deben definir otras características cuantitativas del rango de la mezcla, en caso lo fuera, debido a que ese valor puede aportar datos importantes en la valoración y la interpretación de los perfiles mezcla (Crespillo et al., 2014).

Análisis e interpretación de perfiles mezcla

Una vez aplicados los umbrales generales al análisis, los cuales son necesarios para valorar los perfiles mezcla, se debe descartar los artefactos. Entre ellos podemos mencionar los que están relacionados con la utilización de una cantidad inadecuada de ADN en la reacción PCR y los relacionados con problemas en la electroforesis capilar.

Para interpretar los perfiles genéticos mezcla en los casos de homologación por violencia sexual, sirve de guía la propuesta publicada por (Clayton et al., 1998), donde se establecen los siguientes procedimientos:

- Asignación alélica, debiéndose emplear los umbrales establecidos mediante la validación interna en el laboratorio.
- Confirmación del o los perfiles mezcla, mediante la aplicación de los parámetros y umbrales, determinados también en la validación interna.
- Estimar el número de contribuyentes presentes en el perfil mezcla.
- Estimar a proporción de todos los posibles contribuyentes detectados en la mezcla de perfiles genéticos.
- Establecer los criterios que se considerarán para la clasificación y/o categorización de los perfiles mezcla, para la adecuada toma de decisiones.
- Valorar estadísticamente los resultados obtenidos para la base científica de los resultados.

Aseguramiento de la calidad

- Control negativo

Se utilizan en los procesos de extracción, cuantificación o amplificación y se compone únicamente de los componentes del reactivo y agua libre de nucleasas, es aceptable cuando solo se aprecia una línea por debajo del umbral analítico en todos los marcadores del electroferograma, es decir no se observan alelos y demuestra que no hubo contaminación con ADN exógeno (Butler, 2014; Goodwin et al., 2011).

- Control positivo

También es utilizado en los diversos procesos, se trata de un perfil ya establecido y proporcionado por el kit, este control debe amplificar en todos los marcadores del electroferograma, lo cual demuestra la eficacia del kit (Goodwin et al., 2011).

- ADN degradado

El ADN se encuentra degradado cuando se aprecia que los marcadores de menor tamaño amplifican a diferencia de los marcadores de mayor tamaño no amplifican produciendo un efecto estocástico, por lo tanto, se observa un perfil a manera de pendiente desde los fragmentos más pequeños hacia los fragmentos más grandes. también es observable en muestra sobre-amplificadas (Miozzo, 2019).

- Inhibidores

Los inhibidores son componentes de diversa índole que se localizan en la muestra biológica y que impiden la amplificación total o parcial (Butler, 2014).

- Artefactos

Son aparentes picos adicionales a los alelos que amplifican en el electroferograma sin embargo no corresponden a la genotipificación de la muestra debido a que se producen por la técnica utilizada como es durante el proceso de amplificación o electroforesis capilar (Butler, 2005a). Los artefactos que se producen por la PCR (reacción en cadena de la polimerasa) son los picos stutter y las bandas N que por lo general se les denomina extra.bandas y los artefactos producidos por el instrumento analizador genético son los picos spike, pull ups y Dye blot (Crespillo et al., 2012).

Un laboratorio de Genética forense debe estar acreditado esto hace que tenga algunas ventajas, ya que cuenta con referencias de acreditación internacional, permitiendo así el reconocimiento externo de las acreditaciones otorgadas. La acreditación de acuerdo con la norma

prevé algunos requisitos de gestión que incluyen control de documentos, control de trabajos de prueba no conformes (NC), acciones correctivas y preventivas, organización del laboratorio, la adopción de un sistema de gestión que incluye el manual de calidad y la política de calidad; y requisitos técnicos que incluyen personal, colaboradores, métodos de prueba y validación de métodos, equipos, trazabilidad de las mediciones, aseguramiento de la calidad de los resultados de las pruebas, entre otros (ISO / IEC 17025, 2017).

Un grupo de varios científicos que representan a los laboratorios forenses de Estados Unidos y Canadá, han publicado directrices de validación para los métodos de análisis de ADN (SWGDM, 2016).

Donde, se abordan los pasos de validación, la selección del método y los parámetros a validar. En términos de parámetros, se debe realizar una evaluación indirecta: 1) Especificidad; 2) Umbrales analíticos; 3) Precisión del método y contaminación; y una evaluación directa: 1) Comparación con métodos desarrollados; 2) Comparaciones entre laboratorios y 3) Calibración utilizando materiales de referencia certificados (MRC) (ENFSI, 2010).

Evidencias forenses de violencia sexual

Evidencia forense

En un delito de agresión sexual, al contacto entre el agresor y la víctima quedarán siempre indicios que se trasladan del agresor a la víctima y viceversa. Dichas evidencias se pueden encontrar en cualquier lugar donde se cometió el delito, en los objetos o prendas que llevaba consigo la víctima, así como en el cuerpo de los involucrados (Magalhães, et al, 2015).

Existen 2 tipos de evidencias:

- a. Prueba directa: no se necesita más investigación entre ellas se tiene las declaraciones de testigos o víctima.

- b. Evidencia circunstancial o evidencia indirecta: es la que se debe identificar con una prueba de control o referencia: obtenida de la víctima, sospechoso o base de datos. A su vez se divide en 2 clases:
 - b.1. Evidencia física: Elementos de origen no biológico como huellas, marcas, disparos, explosivos, objetos etc.
 - b.2. Evidencia biológica: Elementos de origen biológico como semen, fluido vaginal u oral entre otros, sangre, sudor, cabellos, células debajo de las uñas etc.

Las evidencias biológicas con frecuencia corresponden a evidencias traza, es decir a los pequeños elementos que no son visibles al ojo humano, pero eso no indicaría que no existen, por ello con ayuda de la tecnología como luces ultravioletas, lupas, y reactivos reveladores de indicios (Prada & Izquierdo, 2001).

Muestra de referencia

La muestra de referencia es la muestra que se conoce su origen o indubitada, puede ser del sospechoso o de la víctima y se colecta para realizar la homologación genética (Magalhães, et al., 2015). Dicha muestra puede ser sangre o hisopado bucal en soporte FTA el cual provee el almacenamiento a largo plazo a temperatura ambiente.

Violencia sexual

La OMS, señala que la violencia sexual es todo acto sexual o tentativa como los comentarios o insinuaciones sexuales no deseados. Además, incluye las acciones para comercializar o utilizar la sexualidad de una persona mediante coacción. Entre ellos se tiene: el acoso sexual, tocamientos indebidos, pornografía y violaciones sexuales. En el capítulo XV del código Penal Peruano se especifican dichos delitos (Enterarse, 2020).

La violencia sexual es un problema de salud pública que ocasiona grandes consecuencias física, psicológicas, sociales y reproductiva en la víctima, donde de cada 3 al menos 1 ha sido violentada o coaccionada sexualmente y donde el abusador casi siempre es un miembro de la familia. (Mariscal, 2011).

Homologación genética

La evidencia biológica es importante para identificar al presunto agresor sexual, cuando este es desconocido tanto para comprobar que estuvo en la escena, así como que es el donador del perfil genético obtenido de la evidencia de la agraviada y por ende en su cuerpo.

La homologación genética se realiza a partir de las evidencias biológicas por violencia sexual que vienen a ser las muestras dubitadas, que deberán ser comparadas con la muestra indubitada del sospechoso y sometidas a un análisis pericial para ser incorporadas a un proceso penal. De los análisis genéticos por homologación conducirán a la valoración de la pericia de los resultados que de ahí resulten (Canle, 2010).

Generalmente el proceso penal se desarrolla en 3 etapas:

1. De la investigación en sí, consistente en la búsqueda de las evidencias.
2. El control de la acusación o sobreseimiento.
3. Juzgamiento por parte de los jueces

Así mismo, el proceso penal se clasifica en procesos comunes y procesos especiales, donde el NCPP ha indicado al proceso penal común para los delitos sexuales.

La identificación de vestigios biológicos es importante para identificación de imputados de delitos, entre ellos los vestigios adecuados para ser analizados a fin de obtener perfiles genéticos de quienes del perpetrados a la cual pertenecen:

Para determinar a quién pertenece los indicios, se debe comparar los perfiles genéticos de dichos vestigios con el perfil obtenido de una muestra biológica del o los sospechosos.

Una de las limitaciones en las homologaciones para identificación en los casos de agresión sexual se debe a la determinación del número mínimo de agresores donde la lisis diferencial y el análisis del cromosoma sexual Y, son de ayuda para este tipo de vestigios (Castro & Martínez, 1998). Pero en el caso de la lisis diferencial podría conllevar a perder material genético y en el caso del análisis del cromosoma sexual, es un estudio costoso y requerirá de mayor material genético, no obstante, la validación de perfiles genéticos mezcla, es una buena alternativa para la homologación genética y determinar la inclusión o exclusión de la culpabilidad de un sospechoso.

2.3. Formulación de hipótesis

2.3.1 Hipótesis general

Se cumple con los criterios de análisis de perfiles genéticos mezcla, en las evidencias forenses de violencia sexual de mujeres peruanas, en la Unidad de Biología Molecular y Genética de Lima; 2019-2020.

2.3.2 Hipótesis específicas

1. Se cumple con la aplicación de los umbrales generales en el análisis de perfiles genéticos mezcla en evidencias forenses en casos penales de violencia sexual de un solo agresor de mujeres peruanas, en la Unidad de Biología Molecular y Genética; 2019-2020.
2. Se cumple con la aplicación de los umbrales generales en el análisis de perfiles genéticos mezcla para su aplicación en evidencias forenses de violencia sexual en casos penales por múltiples agresores de mujeres peruanas, en la Unidad de Biología Molecular y Genética; 2019-2020.
3. Es clara la interpretación de perfiles genéticos mezcla para su aplicación en evidencias forenses de violencia sexual en casos penales de un solo agresor de mujeres peruanas, en la Unidad de Biología Molecular y Genética; 2019-2020.
4. Es clara la interpretación de perfiles genéticos mezcla para su aplicación en evidencias forenses de violencia sexual en casos penales por múltiples agresores de mujeres peruanas, en la Unidad de Biología Molecular y Genética; 2019-2020.

CAPITULO III. METODOLOGIA

La metodología es la ciencia que se encarga del eficiente proceso para un eficaz resultado mediante un objetivo estratégico que se debe seguir en un proceso de investigación. Cortés & Iglesias (2004). Es decir, es la parte de la tesis que responde a como se va a desarrollar la investigación.

3.1. Método de la investigación

El método es el hipotético deductivo, porque en este tipo de investigación se tienen objetivos por el que a partir de un razonamiento deductivo y aprobación de la recolección de datos se da solución al planteamiento de un problema y mediante la observación en particular se obtiene una teoría. Salgado, (2018).

3.2. Enfoque de la investigación

La presente investigación está diseñada bajo el enfoque cuantitativo, debido a que es el que mejor se adapta a las necesidades y características de la investigación. Donde se emplea una prueba estandarizada mediante un escalamiento acumulativo de ítems o elementos (escala estandarizada) que medirán la misma variable mediante una evaluación hasta obtener una puntuación global. Horna (2012).

Del enfoque cuantitativo se tomará la técnica de PCR y electroforesis capilar para evaluar los parámetros y umbrales generales recomendados por la comunidad científica y calificación de los perfiles genéticos mezcla en casos con evidencias forenses de criminalística por violación sexual.

3.3. Tipo de investigación

El tipo de investigación es aplicada de acuerdo con Tam y Oliveros (2008, p47) porque se propone implementar una técnica de análisis de recomendaciones generales otorgadas por la comunidad científica para el análisis de los perfiles genéticos mezcla como es los umbrales de criterios analíticos como herramienta para su aplicación en evidencias forenses por violación sexual en mujeres peruanas.

Nivel de la investigación

El nivel de investigación es transversal descriptiva, donde de acuerdo con Hernández et al., (2018, p177), se indica que este estudio, tiene como objetivo determinar la incidencia, nivel o estado en una o más variables en una población en un enfoque cuantitativo en un tiempo único.

3.4. Diseño de la investigación

De acuerdo con Sampieri (2018, p174) define a la investigación no experimental como “Estudios que se realizan sin la manipulación deliberada de variables y en los que solo se observan los fenómenos en su ambiente natural para analizarlos”.

Un diseño es una estrategia metodológica y estadística desarrollada para alcanzar el objetivo de la investigación.

Dado que el objetivo del estudio será establecer la aplicación de criterios de análisis de perfiles genéticos mezcla en evidencias forenses de violencia sexual, se recurrirá a un diseño no

experimental de manera transversal, descriptiva entre dos o más categorías en un momento determinado.

Así se efectuará un trabajo no experimental en muestras forenses en víctimas por violación sexual aplicando recomendaciones generales de los umbrales y parámetros de los marcadores STRs autosómicos para la aceptación y categorización de las mezclas en el análisis de perfiles genéticos mezcla.

El diseño se representa así;



Donde:

M: muestra de estudio

O_x: Observación de la variable 1: Análisis de perfiles genéticos mezcla.

O_y: Observación de la variable 2: Evidencias forense de violencia sexual.

3.5. Población, muestra y muestreo

Definido por Vara (2015, p221) cómo “La población es el conjunto de sujetos o cosas que tienen una o más propiedades en común, se encuentran en un espacio o territorio y varían en el transcurso del tiempo”. Este estudio estará conformado por las muestras forenses correspondientes a casos de violación sexual que llegan a la Unidad de Biología Molecular y

Genética (2019-2020), las cuales son aproximadamente 1600 evidencias forenses del 2019 al 2020.

El trabajo aplicativo constará de 2 partes:

1. Análisis de perfiles genéticos mezcla.
 - Muestras de referencia (indubitadas)
 - Evidencias forenses
2. Aplicación en muestras forenses de violencia sexual
 - Evidencias forenses de mujeres peruanas, víctimas de agresión sexual

Muestra

La muestra es definida por Salgado (2018) como “Un conjunto de individuos extraídos de la población a partir de un determinado procedimiento específico, que puede ser probabilístico o no probabilístico” (p.122).

El tamaño de la muestra consistió en 141 evidencias forenses, correspondientes a casos judicializados para homologación de ADN de los perfiles genéticos.

Criterios de inclusión y exclusión

a) Criterios de inclusión

- Evidencias forenses de casos tipificados como delitos de violencia sexual y sus semejanzas.
- Evidencias forenses de violación sexual de casos solicitados para prueba de homologación de ADN, solicitados por autoridades fiscales o jueces.
- Evidencias forenses de violación sexual que se encuentren en buen estado de conservación.

- Evidencias forenses de violación sexual remitidas al laboratorio UNBIMOG para el estudio de homologación con muestras de referencia de la muestra de agraviada(s), y del sospechoso(s).
- Evidencias forenses de violación sexual remitidas al laboratorio UNBIMOG para el estudio de homologación que esté conformada con muestras de referencia del sospechoso(s).

b) Criterios de exclusión

- Evidencias forenses de casos tipificados como otros delitos que no son de violencia sexual y sus semejanzas.
- Evidencias forenses solicitados para prueba de homologación de ADN, que no sean solicitados por autoridades fiscales o jueces.
- Evidencias forenses de violación sexual que NO cumplan con los principios de cadena de custodia.
- Evidencias forenses de violación sexual remitidas al laboratorio UNBIMOG que no posean muestras de referencia para la homologación genética.

Muestreo

En esta investigación se utilizó el método de muestreo no probabilístico intencional o de juicio, en el cual de acuerdo a Salgado, (2018) “En este tipo de estudios se selecciona a participantes a los que se puede acceder de forma cómoda o fácil” (p.107).

Para la aplicación en evidencias de violencia sexual estuvo conformada por muestras procedentes de diversos lugares a nivel nacional: Ancash, Apurímac, Arequipa, Ayacucho, Amazonas, Cusco, Huánuco, Ica, Junín, Lima, Madre de Dios, Puno y Ucayali de los casos de

violación sexual de mujeres peruanas los cuales me fueron asignados del 2019 al 2020 para su atención y resolución que cumplieron con los criterios de inclusión.

3.6. Variables y operacionalización

El hecho de explicar un concepto abstracto a uno empírico, con capacidad a poder ser medido por medio de un instrumento significa operacionalizar una variable. Con la finalidad de evitar errores en caso no exista relación entre la variable y como esta se medirá donde se pueda comunicar los resultados de manera más exacta. López (2000).

Segura y FAP (2015) indican, que para poder realizar la operacionalización de las variables se recomienda los siguientes pasos:

- Definir la variable de investigación.
- Determinar las dimensiones de esa variable.
- Establecer sus indicadores y/o subindicadores.
- Elaborar las respectivas escalas de medición.

Esto se realiza en una tabla de doble entrada, donde las variables se colocan en las filas y las cualidades de dichas variables en las columnas.

Variable 1: Perfiles genéticos mezcla:

Son perfiles genéticos donde se observa presencia de 2 o más contribuyentes, el análisis de dichos perfiles genéticos mezcla, ocasiona serias discusiones en los grupos de genética forense. (Crespillo, et al., 2012. P. 1).

Dimensiones de la variable 1

Dimensión 1: Aplicación de los umbrales generales de perfiles genéticos mezcla

En la técnica de análisis de perfiles genéticos existen umbrales que se deben aplicar para la interpretación en el análisis y la asignación alélica. Dichos umbrales generales se definen mediante una revisión bibliográfica. (Crespillo, et al., 2012. P. 2).

Dimensión 2: Interpretación de los perfiles genéticos mezcla

Para interpretar los perfiles genéticos mezcla en los casos de homologación por violencia sexual, sirve de guía la propuesta publicada por (Clayton et al., 1998).

Variable 2: Evidencias forenses de violencia sexual

Son pruebas que comprenden fluidos biológicos en soportes, que fueron trasladados del individuo sospechoso hacia la agraviada y viceversa en el lugar de los hechos, como consecuencia de un delito por violencia sexual. (Magalhães, et al., 2015, p. 2).

Dimensiones de la variable 2

Dimensión 1: Evidencias forenses de casos de violación sexual de un solo agresor

Circunstancialmente, la mezcla biológica presenta un nivel mínimo de un contribuyente, generalmente el perpetrador o agresor en los casos de abuso sexual. (Gonzales et al., 2019, p.8).

Dimensión 2: Evidencias forenses de casos de violación sexual por múltiples agresores.

El término perpetrador o agresor múltiple es para referirse a todos los actos de violencia sexual cometido por dos o más personas. (Morgan et al., 2012).

Matriz de consistencia

Consiste en diseñar y explicar de manera adecuada y clara los elementos que conforman el proyecto de investigación que permitirá medir, evaluar e integrar en su totalidad el proyecto para la interpretación de su operatividad. Pérez y Ortiz (2016).

Es decir, la matriz de consistencia es un instrumento a manera de tabla conformada por columnas y filas, donde todo lo que se encuentra dentro de ella debe tener una concordancia coherencia y lógica como son el título de la investigación, problemas, objetivos, hipótesis, variables y el diseño metodológico. **Ver anexo 1.**

Tabla 1.

Variables y operacionalización: variable 1

Variable	Definición Conceptual	Definición Operacional	Dimensiones	Indicadores	Escala de Medición	Escala valorativa (niveles o rangos)
Perfiles genéticos mezcla	Son perfiles genéticos donde se observa presencia de 2 o más contribuyentes, el análisis de dichos perfiles genéticos mezcla, ocasiona serias discusiones en los grupos de genética forense. (Crespillo, et al., 2012. P. 1).	Se aplican umbrales para el análisis y la asignación alélica que ayudaran al laboratorio en las decisiones acerca de la interpretación de perfiles mezcla, donde cada laboratorio realiza el proceso de validación interna de acuerdo a sus condiciones. Mediante el uso de cuantificación, PCR multiplex y de tecnología de tinción fluorescente de loci STRs, cuyos datos proporcionan información cualitativa y cuantitativa sobre las intensidades de bandas y cantidad de ADN amplificado, con dicha información se podrá interpretar y clasificar los perfiles mezcla de manera sistemática con apoyo de criterios internacionales y aplicación de la validación interna de los umbrales.	Umbrales generales de perfiles genéticos	de aplicación de umbrales de referencia: - Analítico - Estocástico - Stutter - Desbalance de heterocigoto	Ordinal	≥50 RFU, ≤150-200 RFU, ≥10 a 15%, ≤ 0,6 RFU
			Interpretación de perfiles mezcla	aplicación de umbrales proporción de contribuyentes: - Proporción - Contribuyentes principales y secundarios	Ordinal, Nominal	0.001-0.009, 0.01-0.09, 0.1-1, distinguible, no distinguible.
				Descarte de extra bandas Descarte de artefactos no específicos Evaluación de contaminación	Nominal Nominal	Presencia, ausencia positivo amplifica y negativo no amplifica

Categorización genotípica de perfil mezcla:			
- Combinación genotípica	Ordinal,		1-2 alelos, 3-4 alelos,
- Perfiles con efectos estocásticos, Degradación y/o inhibición	Nominal		5-6 alelos, >6 alelos presencia, ausencia
- Tipos de perfiles mezcla.	Nominal		Tipo a, tipo b y tipo c

Fuente: Elaboración propia

Tabla 2.

Variables y operacionalización: variable 2

Variable	Definición Conceptual	Definición Operacional	Dimensiones	Indicadores	Escala de Medición	Escala valorativa (niveles o rangos)
Evidencias forenses de violencia sexual	Son pruebas que comprenden fluidos biológicos en soportes, que fueron trasladados del individuo sospechoso hacia la agraviada y viceversa en el lugar de los hechos, como consecuencia de un delito por violencia sexual. (Magalhães, et al., 2015, p. 2).	Los casos de violación sexual pueden estar perpetrados por un solo agresor o por múltiples agresores, en ambas situaciones las evidencias forenses pueden estar constituidas según el tipo de indicio biológico, así en un perfil mezcla generalmente está compuesto por el perfil de la agraviada (que a veces no es enviado) y el perpetrador(es), este constituye el componente minoritario, que puede encontrarse en un estado crítico o de baja calidad en su ADN. Los componentes de la mezcla mayoritario y minoritario, permitirá categorizar el perfil mezcla y establecer la homologación genética, para su valoración estadística y conclusión de los casos.	Evidencias forenses de casos de violación sexual de un solo agresor	Ubicación:	Nominal	Lima Amazonas Ancash, Apurímac, Ayacucho, Cusco, Huánuco, Junín, Madre De Dios, Ucayali Ica, Arequipa y Puno
				- LIMA y provincias		
				- NORTE Peruano		
				- CENTRO peruano		
				- SUR peruano		
				Edad:	Ordinal	: < 10, 10 a 17, 18 a 25, > 25 < 18, 18 a 30, 31 a 60, >60
				- Agraviada		
				- Agresor		
				Indicio biológico:	Nominal	Anal, vaginal, vulvar, otros Lámina, hisopo, prenda íntima, otras prendas, ropa de cama, otros
				- Tipo		
				- Soporte		

	- Preservación	Nominal	Bueno, regular, malo
	Condiciones de las muestras:		
	- Referencia Agraviada	Nominal	Presente, ausente
	- CuantificaciónSTR	Ordinal	0.002 a 0.01, 0.02 a 0.5,
	- Cuantificación Cromosoma Y		0.6 a 2, 3 a 10, > 10
	- Muestra críticas	Nominal	Baja cantidad ADN, degradación, inhibidas, Sobre-amplificado
Evidencias forenses de casos de violación sexual por múltiples agresores	Homologación genética:		
	- Parentesco biológico	Nominal	V y S emparentados, V y S no emparentados, Agresores emparentados, Agresores no emparentados.
	- Comparación con muestras de referencia	Ordinal	01, 02, 03 ó más de 3 agresores
	Resultados:		
	Calculo de índice de verosimilitud	Nominal	Inclusión, Exclusión, No concluyente.

Fuente: Elaboración propia

3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Para la investigación se empleó la técnica de observación directa que consiste en visualizar directamente el análisis que se pretende investigar, y en contacto directo con las variables propias del estudio, en lo que se refiere a los instrumentos para la recolección de datos, estos estuvieron representados por los procesos para la caracterización y análisis de perfiles genéticos mezcla, así como por un formulario, el cual fue presentado a 05 profesionales expertos en Genética Forense, con mínimo grado de Magister, quienes validaron el instrumento.

Crespillo et al., (2012), refieren que para establecer el procedimiento de análisis de perfiles genéticos mezcla se recomienda seguir “las indicaciones técnicas básicas referenciadas por el NIST (National Institute of Standards and Technology, EEUU) a través de Butler (2006b), las especificaciones de la Scientific Working Group on DNA Analysis Methods (SWGDM, 2010), los estándares de la DNA Advisory Board (Board, 2000), así como las recomendaciones del Grupo de Trabajo de ADN de la European Network of Forensic Science Institutes (ENFSI, 2010), y las directrices marcadas por la UNE-EN ISO/IEC 17025:2017. En su punto 7.2” (p.12).

3.7.1. Técnica

El proceso para la recolección de los datos fue realizado a través de técnicas de procesamiento genético molecular para la caracterización de los perfiles genéticos mezcla comprendido en los siguientes procedimientos:

a. Obtención de las muestras

Las muestras de este estudio, en el caso de muestras de referencia provenientes de individuos varones y/o mujeres consistieron en gotas de sangre impregnadas en tarjeta FTA o papel filtro, así como muestras de evidencias forenses de violación sexual, recibidas a nivel nacional para establecer el estudio de homologación. Dichas muestras de evidencias fueron

solicitadas por autoridades como fiscalías o juzgados en un proceso judicial y autorizado por la Subgerencia de UNBIMOG en el periodo 2019-2020.

b. Extracción del ADN

Tarjetas FTA o Papel filtro: fueron purificadas con la solución FTA Purification Reagent (Whatman Inc.) y buffer TE (pH 8) según procedimiento interno LADN-G-006 Versión: 03 de UNBIMOG.

Las evidencias forenses de violencia sexual se realizaron mediante la extracción del ADN siguiendo las instrucciones del Kit de purificación ChargeSwitch™ Forensic DNA de Invitrogen, así como el procedimiento interno del laboratorio LADN-G-020 Versión: 03. El ADN extraído fue preservado a -20 °C.

c. Cuantificación del ADN

La concentración de ADN óptima en las muestras se realizó mediante la cuantificación siguiendo las recomendaciones del kit de cuantificación de ADN Quantifiler™ Trio, el cual es un kit robusto que permite a los laboratorios forenses obtener simultáneamente una evaluación cuantitativa y cualitativa del ADN humano total humano y ADN humano masculino en una única reacción de PCR en tiempo real. En un equipo 7500 FAST Real Time PCR. Fue consideradas las concentraciones de las muestras entre 0.02 a 2 ng de ADN para la amplificación del ADN (Scientific, 2017).

La curva estándar de cuantificación, se generó a través de diluciones seriadas para las 5 concentraciones estándar del kit, que van desde 50 ng/ml a 0,005 ng/ml que sirvieron para extrapolar la concentración de las muestras (ver tabla 1), para luego preparar el mix de reacción para la amplificación del proceso de cuantificación (tabla 2 y 3).

Tabla 3.*Dilución seriada de estándares de Quantifiler™ Trio DNA*

Estándar	Concentración (ng/uL)	Volúmenes	Factor de dilución
Std. 1	50.00	10 µL [100 ng/µL stock] + 10 µL Quantifiler™ THP DNA dilution buffer	2X
Std. 2	5.00	10 µL [Std. 1] + 90 µL Quantifiler™ THP DNA dilution buffer	10X
Std. 3	0.50	10 µL [Std. 2] + 90 µL Quantifiler™ THP DNA dilution buffer	10X
Std. 4	0.05	10 µL [Std. 3] + 90 µL Quantifiler™ THP DNA dilution buffer	10X
Std. 5	0.005	10 µL [Std. 4] + 90 µL Quantifiler™ THP DNA dilution buffer	10X

Nota. Esta tabla muestra la preparación de la batería de diluciones del estándar de ADN del kit de cuantificación Quantifiler trio.

Fuente: Scientific, T. F. (2017)

Tabla 4.*Componentes del mix de reacción PCR Quantifiler™ Trio DNA*

Componente	Volumen por reacción
Quantifiler™ Trio Primer Mix	7,5 µl
Quantifiler™ THP PCR Reaction Mix	12,5 µ
Volumen total	10,0 µl

Nota. Esta tabla muestra, los componentes de reacción por una reacción, se debe multiplicar por el número de reacciones a utilizar.

Fuente: Scientific, T. F. (2017)

Tabla 5.*Protocolo de ciclado Quantifiler™ Trio DNA*

Temperatura (°C)	Tiempo	N° de ciclos
95	2 min	40
95	9 s	
60	30 s	

Fuente: Scientific, T. F. (2017).

d. Amplificación del ADN

La amplificación de las muestras se realizó mediante el procedimiento Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) (Mullis et al, 1986).

Las muestras de referencia (Tarjetas FTA o papel filtro) fueron amplificadas siguiendo las instrucciones del kit de amplificación Investigator 24plex GO Kit de QIAGEN (Tabla5). Las muestras de ADN líquidas (ADN extraído de muestras forenses) fueron amplificadas siguiendo las instrucciones del kit de amplificación Investigator 24plex QS Kit de QIAGEN (Tabla 6). Estos kits poseen 21 marcadores STRs y son útiles para la amplificación múltiple de los locus básicos del CODIS (TH01, D3S1358, vWA, D21S11, TPOX, D1S1656, D12S391, SE33, D10S1248, D22S1045, D19S433, D8S1179, D2S1338, D2S441, D18S51, FGA, D16S539, CSF1PO, D13S317, D5S818 y D7S820) y amelogenina (determinación del sexo).

Las muestras fueron amplificadas en los equipos termocicladores: Veriti® 96-Well Fast Thermal Cycler de Applied Biosystems y Mastercycler® Nexus Thermal de Eppendorf cuyo mix de reacción y ciclo de amplificación empleado se detalla en las tablas 6, 7 y 8.

Tabla 6.

Condiciones del mix de reacción PCR (STRs autosómicos)

Componente	Volumen por reacción
Fast Reaction Mix 2.0	7,5 µl
Primer Mix	12,5 µ
Volumen total	20,0 µl

Nota. Esta tabla muestra, los componentes por una reacción, se debe multiplicar por el número de reacciones a utilizar.

Fuente: Qiagen (2021b)

Tabla 7.

Protocolo de ciclado Investigator 24plex GO para sangre en FTA y papel filtro

Temperatura (°C)	Tiempo	N° de ciclos
98	30 s	
64	40 s	3
72	5 s	
96	10 s	
61	40 s	22
72	5 s	
68	2 min	-
60	2 min	-
10	∞	-

Fuente: Qiagen (2021b)

Tabla 8.

Protocolo de ciclado Investigator 24plex QS para muestras de evidencias de asalto sexual

Temperatura (°C)	Tiempo	N° de ciclos
98	30 s	
64	55 s	3
72	5 s	
96	10 s	
61	55 s	27
72	5 s	
68	2 min	-
60	2 min	-
10	∞	-

Fuente: Qiagen (2021a)

e. Electroforesis capilar

La separación y detección de los productos amplificados se realizó mediante electroforesis capilar automatizada, en el equipo Analizador genético automático ABI 3500xL, para ello se utilizó el Polímero POP-4™ el cual es el soporte donde se separan los fragmentos.

Se preparó un mix con formamida y size estándar, las cantidades dependen del número de muestras de acuerdo a la tabla 7:

Tabla 9.*Mix de preparación para la electroforesis capilar*

Componente	Cantidad
Formamida Hi Di	12 ul
Size Standar	0,5 ul de DNA size estándar 24 plex (BTO)

Fuente: Qiagen (2021a)

Se siguieron las recomendaciones post amplificación del kit de amplificación utilizado. Los datos de las muestras (mediante códigos de ADN), se ingresaron en el software Data Collection del analizador 3500xL. La tipificación se realizó por comparación mediante una escalera alélica de referencia provista por los fabricantes de los kits. Una vez finalizada la corrida en el equipo analizador se crearon los proyectos analíticos de perfiles genéticos, mediante el software GenMapper ID-X, el cual es un software de genotipificación automatizada de Applied Biosystems.

A los perfiles genéticos obtenidos de las evidencias de asalto sexual se realizó los siguientes procedimientos en el análisis de los perfiles genéticos:

1. Aplicación de los umbrales generales de decisión para la asignación de alelos.

- Para el umbral Analítico (UA)

Cualquier pico que se encuentre por encima de dicho umbral se considera un alelo verdadero (Budowle et al., 2009) y por debajo del umbral sería parte del ruido de fondo (Butler, 2006), es así que se verificó si los perfiles genéticos de las muestras se encontraron por encima de los 50 RFU.

- Para el umbral estocástico (UE)

Por encima de este valor de altura máxima, se puede asumir que no hay pérdida alélica, en un alelo hermano de un heterocigoto; así como los alelos individuales por encima de este valor en muestras de una sola fuente son homocigotos. Gill et al., (2008 y 2009). Para la investigación se aplicó un UE de 150 a 200 RFU. Butler (2006).

➤ Para el umbral de Stutter (US)

La banda stutter es una extra-banda muy usual y es causada por el resbalamiento de la enzima Taq polimerasa durante la amplificación multiplex, dichas bandas stutter tienen un pico más pequeño en relación a la banda principal y está por debajo del 15 % del área del pico del alelo principal. Clayton et al., (1998). Por lo que se consideró como banda stutter a aquellos picos menores 10 a 15 % del alelo principal, donde por debajo de este valor se le puede considerar como stutter.

➤ Para el umbral Balance de heterocigotos (UB)

Este término también denominado desequilibrio o equilibrio de heterocigotos, es la diferencia en la proporción de la altura de los alelos de un genotipo heterocigoto, donde resulta de gran importancia en la categorización de un perfil mezcla. Se consideró un desbalance de < 60% entre las alturas de los picos heterocigotos. Butler & Gittelsohn (2015).

$$PHR = \frac{\text{Altura alelo 1 (RFU)}}{\text{Altura alelo 2 (RFU)}} \times 100$$

➤ Para el umbral “Proporción de contribuyentes”

Para determinar este umbral se tomó en cuenta la proporción en el área de las sumas de las alturas (RFU) de los picos del componente minoritarios con respecto a la suma de todos los picos que constituyen la muestra.

$$Mx = \frac{\text{Suma de alturas de alelos menores}}{\text{Suma de todas las alturas alélicas}}$$

2. Identificación de presencia de perfiles genéticos mezcla

- Presencia de más de 02 alelos en los marcadores genéticos
- Se observa diferencia en las alturas (RFU) de los alelos heterocigotos menor al 60 % (en muestras con escaso ADN, no se cumple).
- Alelos stutters mayores al 10-15 % de altura (RFU).
- Cantidad de ADN, si el componente minoritario se encuentra por encima del umbral analítico (UA).

3. Identificación de extra-bandas

- Presencia de stutters: debajo del 10-15 % de RFU del alelo verdadero.
- Presencia de anomalías cromosómicas: trialelos.
- Presencia de N-bandas (N y N+1) debido a la adenilación producida por la Taq polimerasa que suele añadir una A al extremo 3', cuando hay sobre amplificación de ADN, ocasionando la aparición de picos con un nucleótido menos, observándose como un pico partido.
- Descartar microvariantes

4. Identificación de artefactos

- Presencia de picos pull ups: cuando un alelo verdadero es muy alto (RFU) ocasionará la aparición de un falso pico en otros paneles.
- Presencia de picos de corriente o spike: son muy delgados a comparación de los alelos verdaderos y se reflejan en otros paneles, se producen a consecuencia de altos voltajes en la electroforesis.

- Presencia de Dye blob, debido a la disociación del flurocromo del primer y que migran en la electroforesis capilar separados del cebador y del amplicón, sus picos son más ensanchados y bajos, generalmente fuera del bin.
- Presencia de alelos off-ladder (OL)

5. Identificación de degradación o inhibición

- Presencia de desbalance de heterocigotos por diferencia en las alturas de los alelos.
- Presencia de Perdida de alelos: no se observa uno de los alelos en los heterocigotos.
- Presencia de desbalance entre los marcadores genéticos: en muestras degradadas los alelos de los marcadores grandes se pierden.

6. Identificación del número de individuos

- De 2 a 4 alelos por marcador: 02 individuos
- De 5 a 6 alelos por marcador: 03 individuos
- Mayor de 6 alelos: no se puede determinar el número de individuos

7. Combinación de los genotipos

- Modelo combinatorio no restrictivo: Se contempla todas las posibilidades de combinaciones genotípicas posibles según Clayton et al., (1998).
- Modelo combinatorio restrictivo: se contempla las posibilidades de combinaciones más probables según Gill et al., (2006).

8. Identificación de tipos de perfiles genéticos mezcla

- Tipo a: Mezclas con contribuyentes distinguibles.
- Tipo b: Mezclas con contribuyentes indistinguibles

- Tipo c: Mezclas con efectos estocásticos y/o degradadas

9. Determinación del Índice de Verosimilitud (LR)

- H_0 = Hipótesis del fiscal: el perfil genético del sospechoso contribuye en la evidencia.
- H_a = Hipótesis de la defensa: el perfil genético del sospechoso no contribuye en la evidencia.

10. Posibles resultados

- Inclusión: el o los perfiles de las muestras de referencia coinciden con el perfil mezcla de la evidencia, por tanto, se debe realizar una valoración estadística.
- Exclusión: el o los perfiles de las muestras de referencia no coinciden con el perfil mezcla de la evidencia.
- No concluyente: la información del perfil genético mezcla de la evidencia es insuficiente (perfil parcial) para determinar una inclusión o exclusión.

3.7.2. Descripción de instrumentos

Según Hernández y Torres (2018, p267) “Toda medición o instrumento de recolección de datos cuantitativo debe reunir tres requisitos esenciales: confiabilidad, validez y objetividad”.

Para la elaboración de la investigación se utilizaron fichas que tuvieron como objetivo recopilar datos para el análisis de los perfiles genéticos mezcla (variable 1) que luego fue aplicado en los casos con evidencias de violencia sexual en mujeres peruanas (variable 2), **ver anexo 2**.

Los datos que fueron recolectados de las fichas de recolección de datos o instrumentos se realizaron mediante el empleo de los siguientes equipos, reactivos e insumos:

A. Equipos

- Termociclador: Veriti® 96-Well Fast Thermal Cyclers de Applied Biosystems

- Analizador genético automático ABI 3500xL de Applied Biosystems
- Centrifuga 5415 D de Eppendorf
- 7500 FAST Real Time PCR de Applied Biosystems
- Micropipetas mecánicas Gilson P10, P20, P100 y P1000.
- Baño maria
- Vortex

B. Reactivos

- Kit de amplificación Investigator 24plex QS Kit de QIAGEN
- Kit de amplificación Investigator 24plex GO Kit de QIAGEN
- Reactivo de purificación Whatman® FTA®
- TE buffer (1X) grado biología molecular
- Kit de cuantificación de ADN Quantifiler™ Trio de Applied Biosystems
- Kit de extracción ChargeSwitch™ Forensic DNA de Invitrogen.
- Size Standard v2.0 GeneScan™ 600 LIZ™ proporcionado por el kit de amplificación.
- Polímero POP-4™ para analizador genético 3500/3500xL.
- Formamida Hi-Di™ de Applied Biosystems
- Contenedor con buffer cátodo para ABI 3500xL.
- Contenedor con buffer ánodo para ABI 3500xL.

C. Consumibles

- Tarjetas FTA®, de Whatman™ con sobres.
- Hisopos individuales estériles
- Gasa estéril
- Alcohol 70 %

- Lancetas estériles
- Bisturís estériles
- Guantes de látex o nitrilo estériles
- Chaquetas manga larga con puño
- Kit de cirujano (05 piezas)
- Gorros descartables tipo gusanito
- Mascarillas descartables
- Placas de 96 pocillos libre de DNAsas y RNAsas
- Tubos de 200 uL para PCR libre de DNAsas y RNAsas
- Tubos PCR de 1,5 uL libre de DNAsas y RNAsas
- Película adhesiva óptica MicroAmp™
- Rack de separación magnética MagnaRack™ de Invitrogen™
- Punteras para pipetas Gilson P10, P20, P100 y P1000.
- Septa para contenedor del buffer cátodo para ABI 3500xL
- Septa para contenedor del buffer ánodo para ABI 3500xL
- Septa para placa de 96 pocillos para ABI 3500xL

3.7.3. Validación

Descripción del instrumento.

Para la validación de instrumentos se elaboró una ficha **ver anexo 2**, denominada: análisis de perfiles genéticos mezcla para su aplicación en evidencias forenses de violencia sexual de mujeres peruanas, dirigido a 05 profesionales expertos en Genética forense, Biología Molecular y Criminalística, a quienes se les remitió mediante correo electrónico y de manera personal: una carta de presentación, la matriz de operacionalización de variables, el certificado

de validez para la variable 1 y 2, que permitía analizar la pertinencia, relevancia y claridad mediante ítems: MD, D, A, MA **ver anexo 3**, y el instrumento de recolección de datos para ambas variables, así mismo se indicó lo siguiente:

Estimado colega, se desea conocer su opinión sobre el análisis de los perfiles genéticos mezcla para su aplicación en evidencias forenses de violencia sexual. Por tanto, se le presenta la ficha de investigación titulada **“ANÁLISIS DE PERFILES GENÉTICOS MEZCLA Y SU APLICACIÓN EN EVIDENCIAS FORENSES DE VIOLENCIA SEXUAL DE MUJERES PERUANAS EN UNBIMOG 2019-2020”**.

3.7.4. Confiabilidad

Se realizó un estudio piloto en una muestra de 15 evidencias forenses de mujeres peruanas por violencia sexual, correspondiente a casos judicializados para la homologación mediante la prueba de ADN. Con los resultados obtenidos se estimó la confiabilidad del instrumento con el estadístico alfa de Cronbach. (González y Pazmiño 2015), mediante el uso del software IBM SPSS Statistics 26 **ver anexo 4**, donde la confiabilidad es altamente significativa para los 25 ítems analizados.

3.8. Plan de procesamiento y análisis de datos

Se empleó el programa Word 2016 para la redacción textual de la investigación, mientras que, para la creación de una base de datos de los resultados obtenidos con el equipo, así como para la elaboración de las tablas y gráficas mediante el programa Excel 2016.

La parte estadística para el análisis de los ítems se realizó mediante la herramienta estadística IBM SPSS Statistics 26. Finalmente, la valoración estadística de los resultados de los perfiles mezcla con las muestras de referencia a homologar en los casos de violación sexual se realizó mediante el programa LRmix Studio (Haned y de Jong, 2016).

3.9. Aspectos éticos

La presente investigación está acorde a las disposiciones vigentes del comité de investigación del Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses y de la Universidad Particular Norbert Wiener por el cual sólo se recolectó la data ya procesada de perfiles genéticos de muestras evidencias de violencia sexual de mujeres peruanas que fueron parte de los procesamientos rutinarios del laboratorio, en dichas muestras no se hizo uso de nombres ni algún otro dato que manifieste la identidad de las personas a quienes pertenecen las muestras. Así mismo a los datos recolectados se aplicó los instrumentos previamente validados y suficientemente confiables siguiendo el procedimiento metodológico propuesto en el estudio para alcanzar los objetivos trazados.

Así mismo, las muestras que se tomaron en cuenta en este trabajo surgen como requerimientos de casos de índole penal, para establecer homologación genética en procesos criminalísticos forenses por violación sexual, por tanto, son requeridos por orden judicial y autorizadas por la Sub Gerencia de UNBIMOG, para este estudio fueron codificadas (código distinto al que se usa en el laboratorio) para preservar la identidad, manteniéndose en forma anónima según ley 29733 de protección de datos personales. Los datos del estudio solo fueron utilizados exclusivamente para fines de este estudio.

No se utilizó un consentimiento informado por que no se realizó tomas de muestras a individuos, la tesis se desarrolló en base a la data de perfiles genéticos obtenidos en el equipo analizador genético ABI 3500 xL como parte de los procesamientos rutinarios del laboratorio UNBIMOG durante el 2019 al 2020.

La investigación fue sometido al comité de ética de investigación de la Universidad Norbert Wiener siendo aprobada mediante **Resolución 1483-2022**, así mismo fue aprobada por

el Comité de ética del Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses mediante **informe N° 004-2022-MP-FN-OFGACAL-CEI**. El proyecto además fue aprobado por la Gerencia de Garantía de la Calidad del IMLYCF mediante **OFICIO N° 000141-2022-MP-FN-OFGACAL**.

- La investigación es de mi autoría responsable, conflicto de intereses, mentoría, plagio y publicación responsable.
- Fue sometido al programa TURNITIN.

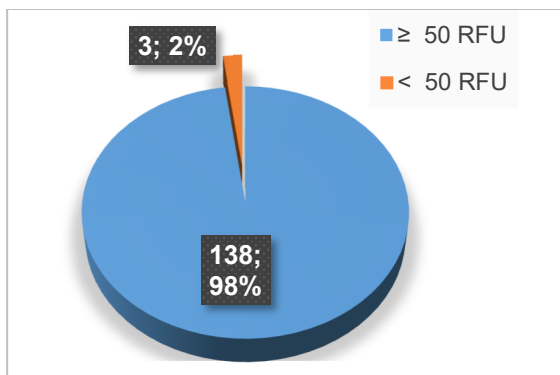
CAPITULO IV: PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

4.1. Resultados

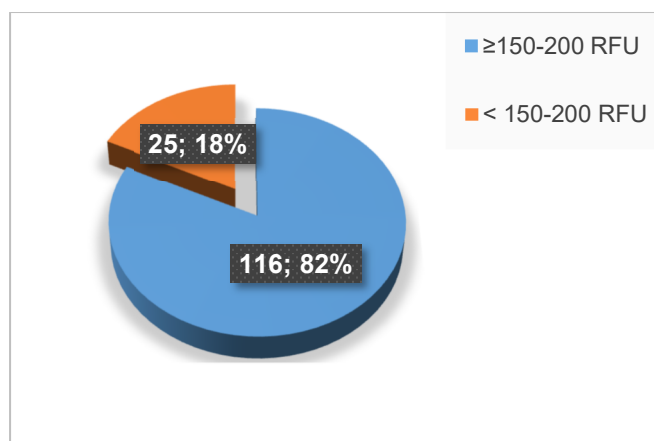
El estudio consistió en el análisis de los perfiles genéticos de 141 muestras de evidencias forenses de mujeres peruanas (agraviadas) por delitos de violencia sexual correspondientes a 36 casos de índole penal que fueron solicitados para el estudio de homologación de ADN durante el periodo 2019 al 2020 en la Unidad de Biología Molecular y Genética del Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses. La edad de las muestras de las agraviadas oscila entre 4 a 39 años de edad, provenientes de los departamentos de Amazonas, Ancash, Apurímac, Arequipa, Ayacucho, Cusco, Huánuco, Ica, Junín, Lima, Madre De Dios, Puno y Ucayali.

4.1.1. Análisis descriptivos de resultados

- 1) Perfiles genéticos mezcla
 - Umbrales generales de perfiles genéticos
 - Aplicación de umbrales de referencia

Figura 4.*Umbral analítico de perfiles genéticos*

Interpretación: El 98 % del umbral analítico de los perfiles genéticos son alelos verdaderos en todos los sets de marcadores genéticos analizados, porque superaron la altura de 50 RFU, el 2 % no superaron dicho umbral, estos se trataban de perfiles genéticos con algunos marcadores genéticos estocásticos (perfiles genéticos mezcla parcial).

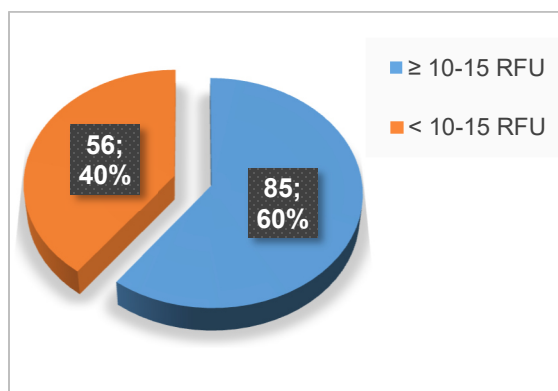
Figura 5.*Umbral estocástico de perfiles genéticos*

Interpretación: El 82 % de los perfiles genéticos de las evidencias superaron el umbral estocástico de perfiles genéticos en todos los marcadores genéticos analizados, es decir no hubo pérdida alélica en esos perfiles mezcla, el 18 % de los perfiles mezclas de las

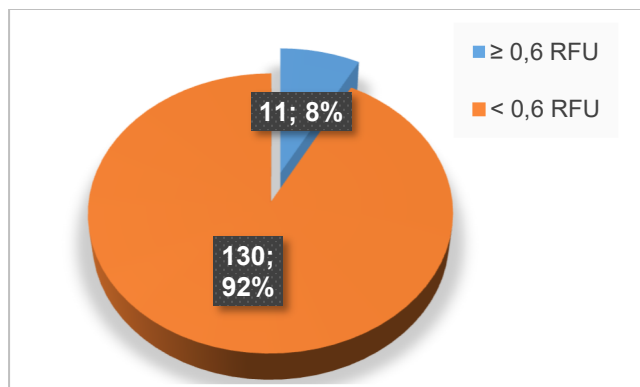
evidencias no superaron dicho umbral en algunos marcadores genéticos siendo corroborado por muestras del mismo extracto en duplicado por lo que se trataba de perfiles genéticos degradados, con pérdida alélica, pero que no necesariamente eran perfiles mezcla parciales.

Figura 6.

Stutter de perfiles genéticos

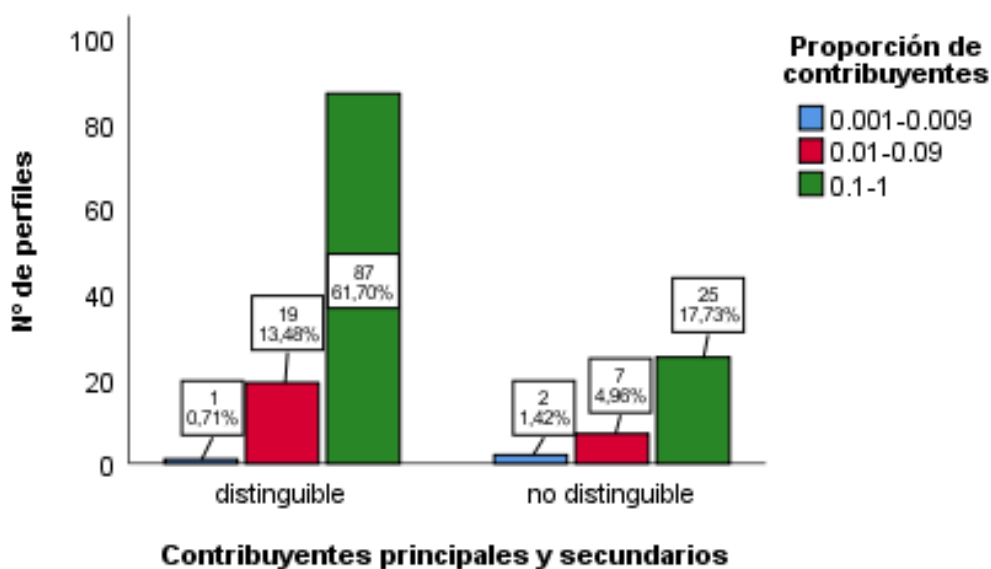


Interpretación: El 60 % de los perfiles genéticos mezcla serían alelos verdaderos y el 40 % se encuentran en la posición stutters en algunos marcadores genéticos, lo cual dificulta la interpretación del perfil mezcla, por lo que se valora la presencia de las muestras de referencia de agraviada y sospechoso (s), uso de duplicado, así como el estudio del cromosoma sexual Y en estos casos.

Figura 7.*Balace de heterocigotos de perfiles genéticos*

Interpretación: Existe un 92 % de desbalance de heterocigotos, en algunos marcadores genéticos donde las alturas de los picos alélicos de heterocigotos dieron valores menores a 0,6 RFU, mientras que el 8 % en otros marcadores genéticos las alturas de los picos de los alelos heterocigotos se encontraban en el umbral mayor o igual a 0,6%.

- Aplicación de umbrales proporción de contribuyentes

Figura 8.*Proporción de contribuyentes de perfiles genéticos*

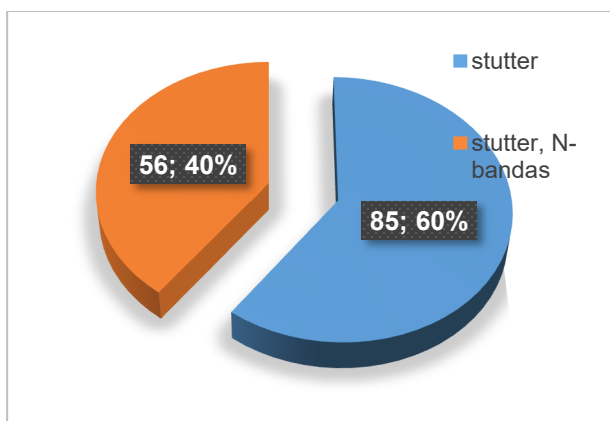
Interpretación: Para la proporción de contribuyentes 0.1-1, 87 mostraron contribuyentes principales y secundarios distinguibles, 25 no distinguibles, para la proporción de contribuyentes de 0.01-0.09, 19 distinguibles y 7 no distinguibles y para la proporción de contribuyentes de 0.001-0.009, 1 distinguible y 2 no distinguible.

➤ Interpretación de perfiles genéticos mezcla

- Descartes de extra-bandas

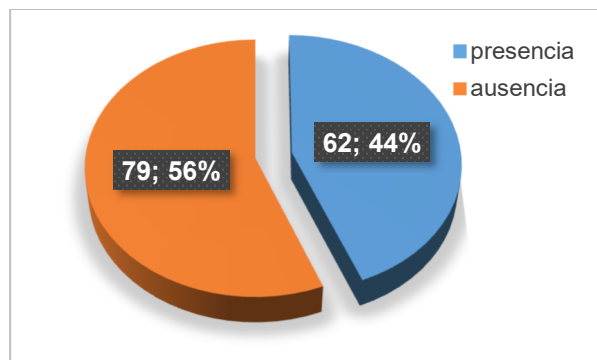
Figura 9.

Descarte de extra-bandas: stutter, N-bandas, tri-alelos

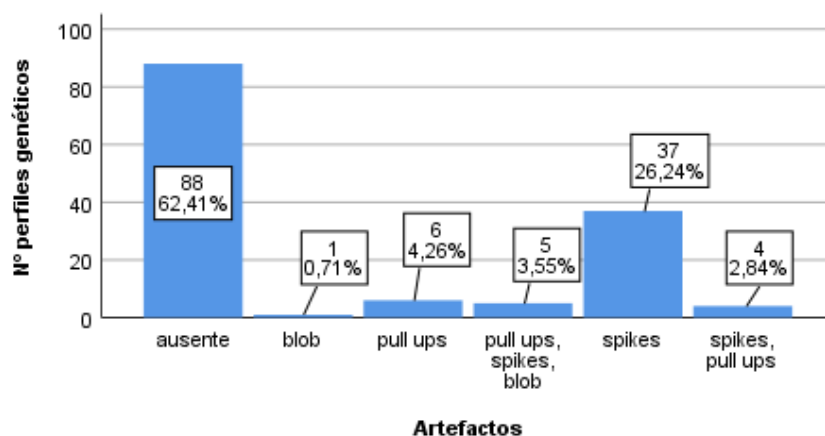


Interpretación: El 60 % de los perfiles genéticos presentó solo picos stutters, mientras que el 40 % presentó picos stutters y N-bandas, siendo frecuentes en perfiles genéticos sobre-amplificados (exceso de ADN), no se detectó tri-alelos confirmados, donde las muestras de referencia con los cuales se comparó las evidencias no presentaba dicha anomalía cromosómica.

- Descarte de artefactos no específicos

Figura 10.*Descarte de Artefactos*

Interpretación: De los perfiles genéticos analizados de las evidencias forenses el 56 % no presentaron artefactos en algunos marcadores genéticos analizados y el 44 % si presentaron dichos artefactos.

Figura 11.*Artefactos: Pull-up, dropping, dye blob, spikes, OL*

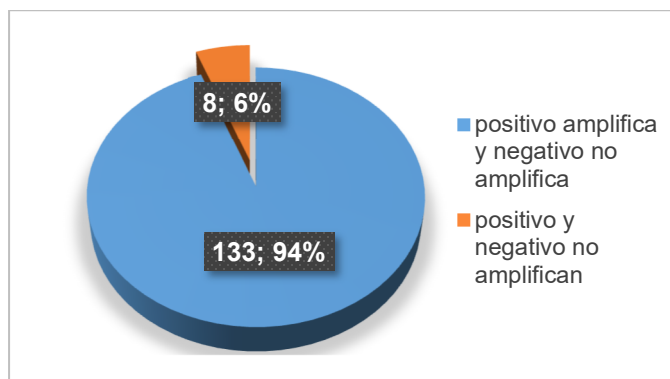
Interpretación: Entre los artefactos observados en algunos marcadores genéticos de los perfiles, 88 no presentó artefactos, 37 presento spikes, 6 tuvieron pull ups, sobre todo en aquellos perfiles genéticos con exceso de ADN, 5 presentaron artefactos

como pull ups, spikes, y dye-blob, 4 presentaron spikes y pull ups, y 1 presento dye-blob.

- Evaluación de contaminación

Figura 12.

Descarte de contaminación



Interpretación: El 94 % de los controles positivos y negativos cumplieron con el control de calidad como es; amplifica el control positivo y no amplifica el control negativo, el 6 % de dichos controles no amplifico el control positivo, pero tampoco amplifico el control negativo, por lo que se valoró el hecho que el control negativo no amplifique porque permite descartar contaminación del mix PCR de amplificación y por ende resultados no fiables.

- Categorización genotípica de perfil mezcla

Tabla 10.

Combinación genotípica y tipo de perfil genético mezcla

		Tipo de mezcla			
		a: Mezclas con contribuyentes distinguibles	b: Mezclas con contribuyentes indistinguibles	c: Mezclas con efectos estocásticos y/o degradadas	Total
1-2 alelos	Recuento	0	0	10	10

		% dentro de Tipo de mezcla	0,0%	0,0%	62,5%	7,1%
Combinación genotípica de la mezcla	3-4 alelos	Recuento	83	10	6	99
		% dentro de Tipo de mezcla	90,2%	30,3%	37,5%	70,2%
	5-6 alelos	Recuento	9	21	0	30
		% dentro de Tipo de mezcla	9,8%	63,6%	0,0%	21,3%
Total	> 6 alelos	Recuento	0	2	0	2
		% dentro de Tipo de mezcla	0,0%	6,1%	0,0%	1,4%
		Recuento	92	33	16	141
		% dentro de Tipo de mezcla	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Interpretación: En las combinaciones genotípicas con 1-2 alelos podemos observar el 62,5 % de mezclas tipo c: con efectos estocásticos y/o degradados, las combinaciones con 3-4 alelos presentan el 90.2 % mezclas tipo a: con contribuyentes distinguibles, en la combinación de 5-6 alelos el 63,6 % se observa mezclas tipo b con contribuidores no distinguibles y en el caso de las combinaciones con más de 6 alelos solo el 6,1 % se observó mezclas tipo b: con contribuidores no distinguibles.

Tabla 11.

Asociación de la combinación genotípica de la mezcla y el tipo de mezcla

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	136,786 ^a	6	,000
Razón de verosimilitud	98,644	6	,000
Asociación lineal por lineal	1,749	1	,186
N de casos válidos	141		

a. 6 casillas (50,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es ,23.

Fuente programa SPSS versión 26.

Interpretación: Existe una asociación entre la combinación genotípica del perfil genético mezcla y el tipo de mezcla con una significancia asintótica bilateral de Chi cuadrado de Pearson menor de 0,05.

Tabla 12.

Perfil estocástico, inhibido y/o degradado y tipo de perfil genético mezcla

			Tipo_de perfil Mezcla*			
			Tipo a	Tipo b	Tipo c	Total
		Recuento	12	7	8	27
Perfil	Presencia	% dentro de	13,0%	21,2%	50,0%	19,1%
Estocástico,		Tipo_Mezcla				
Inhibición y/o		Recuento	80	26	8	114
Degradación	Ausencia	% dentro de	87,0%	78,8%	50,0%	80,9%
		Tipo_Mezcla				
		Recuento	92	33	16	141
Total		% dentro de	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
		Tipo_Mezcla				

*Tipos de perfil mezcla a: mezclas con contribuyentes distinguibles, b: mezclas con contribuyentes indistinguibles y c: mezclas con efectos estocásticos y/o degradados.

Fuente programa SPSS versión 26.

Interpretación: En el perfil mezcla tipo a, el 87 % no presentaba perfiles estocásticos, inhibidos y/o degradados y el 13 % si presentaba estos perfiles, en los perfiles mezcla tipo b, el 78,8 % no presentaron perfiles estocásticos y el 21,2 % si presentaron dichos perfiles, finalmente el perfil mezcla tipo c, el 50 % no presentaba perfiles estocásticos, inhibidos y/o degradado mientras que el otro 50 % si lo presentaba.

Tabla 13.

Asociación del Perfil estocástico, inhibido y/o degradado y tipo de perfil genético mezcla

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	12,142 ^a	2	,002
Razón de verosimilitud	10,188	2	,006
Asociación lineal por lineal	10,655	1	,001

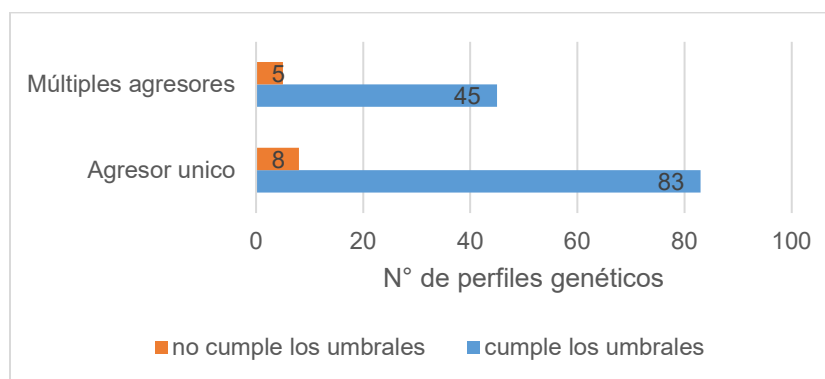
N de casos válidos	141
a. 1 casillas (16,7%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 3,06.	

Fuente programa SPSS versión 26.

Interpretación: Existe una asociación entre los perfiles genéticos que presentaron problemas estocásticos, inhibidos o degradados y los tipos de perfiles mezcla (a, b y c) con una significancia asintótica bilateral de Chi cuadrado de Pearson menor de 0,05.

Figura 13.

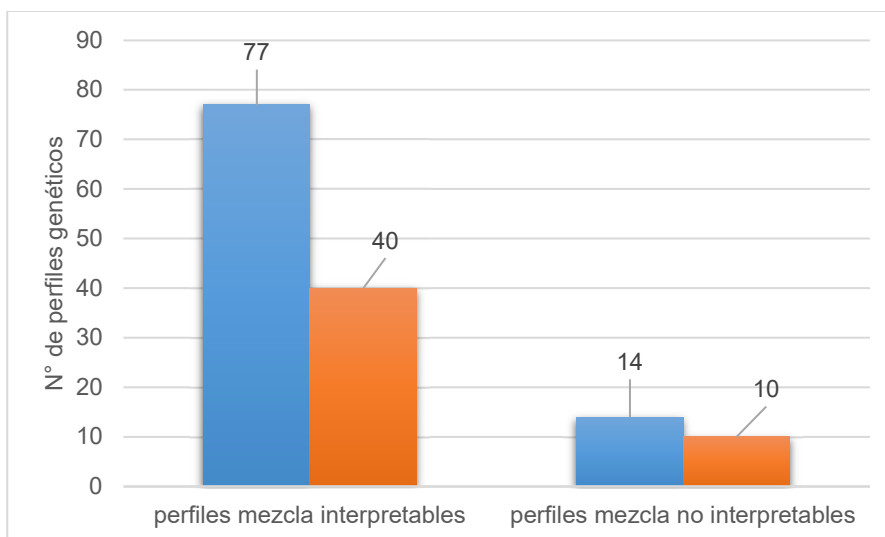
Umbrales generales y casos según el número de agresor (es)



Interpretación: De los casos con agresor único 83 perfiles cumplen con los umbrales y 8 no cumple con los umbrales y de los casos con múltiples agresores 45 cumplen con los umbrales y 5 no cumple con los umbrales.

Figura 14.

Interpretación de perfiles mezcla y casos según el número de agresor (es)



Interpretación: Los perfiles mezcla fueron interpretables en 77 evidencias por agresor único y 40 evidencias por múltiples agresores, así mismo no fueron interpretables en 14 evidencias por agresor único y 10 evidencias por múltiples agresores.

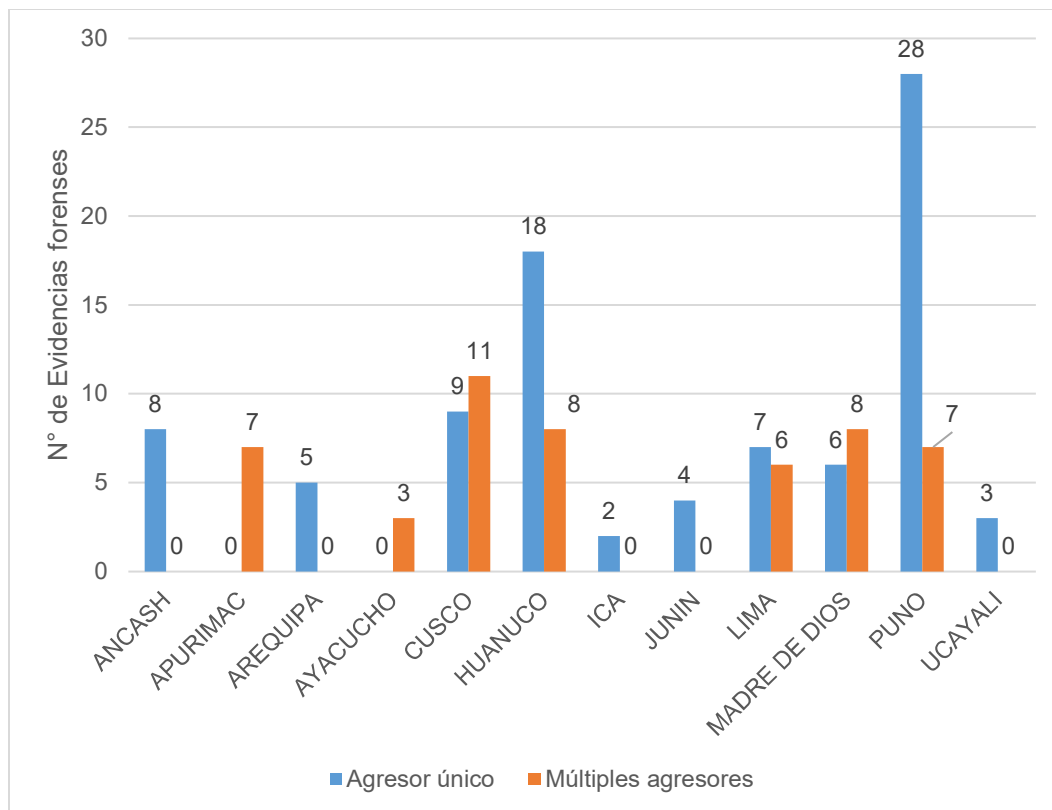
2) Evidencias forenses de violencia sexual

➤ Evidencias forenses de casos de violación sexual de un solo agresor

- Ubicación

Figura 15.

Ubicación por departamento de las evidencias forenses y casos por el número de agresor (es)



Interpretación: El mayor número de evidencias forense provinieron del departamento de Puno con 28 evidencias en casos con agresor único y 7 evidencias en múltiples agresores, seguido de Huánuco con 18 evidencias en agresor único y 8 evidencias en múltiples agresores, Cusco 9 evidencias en casos con agresor único y 11 evidencias en múltiples agresores, Madre De Dios 6 evidencias en casos con agresor único y 8 evidencias en múltiples agresores, Lima y provincias con 7 evidencias en casos con agresor único y 6 evidencias en múltiples agresores, Ancash con 8 evidencias con agresor único, Apurímac 7 evidencias con múltiples agresores, Arequipa 5 evidencias con agresor único, Junín con 4 evidencias con agresor único, Ayacucho 3 evidencias con múltiples agresores y Ucayali

con 3 evidencias con agresor único, Ica con 2 evidencias y Amazonas 01 evidencia con agresor único que fueron procesadas del 2019 al 2020 en UNBIMOG.

- Edad

Tabla 14.

Edad agraviada y casos por el número de agresor (es)

			Edad Agraviada (s)				
			< 10	10 -14	15 -18	> 18	Total
Casos por el N° de agresor (es)	Agresor único	Recuento	17	13	22	39	91
		% dentro de Edad Agraviada (s)	100,0%	81,3%	73,3%	50,0%	64,5%
	Múltiples agresores	Recuento	0	3	8	39	50
		% dentro de Edad Agraviada (s)	0,0%	18,8%	26,7%	50,0%	35,5%
Total	Recuento		17	16	30	78	141
	% dentro de Edad Agraviada (s)		100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
	Agraviada (s)						

Interpretación: El 100 % de agraviadas menores de 10 años correspondieron a los casos por agresor único, las agraviadas de 10 a 14 años el 81,3 % correspondieron a casos por agresor único y el 18,8 % a casos por múltiples agresores, las agraviadas de 15 a 18 años el 73,3 % correspondieron a casos por agresor único y el 26,7 % a casos por múltiples agresores y las agraviadas mayores de 18 años el 50 % correspondieron a casos por agresor único y el otro 50 % a casos por múltiples agresores.

Tabla 15.*Relación edad agraviada y casos por el número de agresor (es)*

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	19,511 ^a	3	,000
Razón de verosimilitud	25,003	3	,000
Asociación lineal por lineal	18,850	1	,000
N de casos válidos	141		

a. 0 casillas (0,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 5,67.

Interpretación: Los casos con agresores únicos se asocian con agraviadas mujeres menores de 10 años, mientras que los agresores múltiples se asocian con agraviadas mayores de 18 años.

Tabla 16.*Edad agresor (es) y casos por el número de agresor (es)*

		Edad Agresor (es)				
		14 a 17	18 a 35	36 a 64	Total	
Casos por el N° de agresor (es)	Agresor único	Recuento	0	60	31	91
		% dentro de Edad	0,0%	64,5%	77,5%	64,5%
	Múltiples	Recuento	8	33	9	50
	agresores	% dentro de Edad	100,0%	35,5%	22,5%	35,5%
Total		Agresor (es)				
		Recuento	8	93	40	141
		% dentro de Edad	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
		Agresor (es)				

Interpretación: El 100 % de los casos por múltiples agresores correspondieron a agresores de 14 a 17 años, los agresores de 18 a 35 años el 64,5 % correspondieron a casos por agresor único y el 35,5 % a casos por múltiples agresores y los agresores de 36

a 64 años el 77,5 % correspondieron a casos por agresor único y el otro 22,5 % a casos por múltiples agresores.

Tabla 17.

Relación edad agresor(es) y casos por el número de agresor (es)

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	17,496 ^a	2	,000
Razón de verosimilitud	19,746	2	,000
Asociación lineal por lineal	11,403	1	,001
N de casos válidos	141		

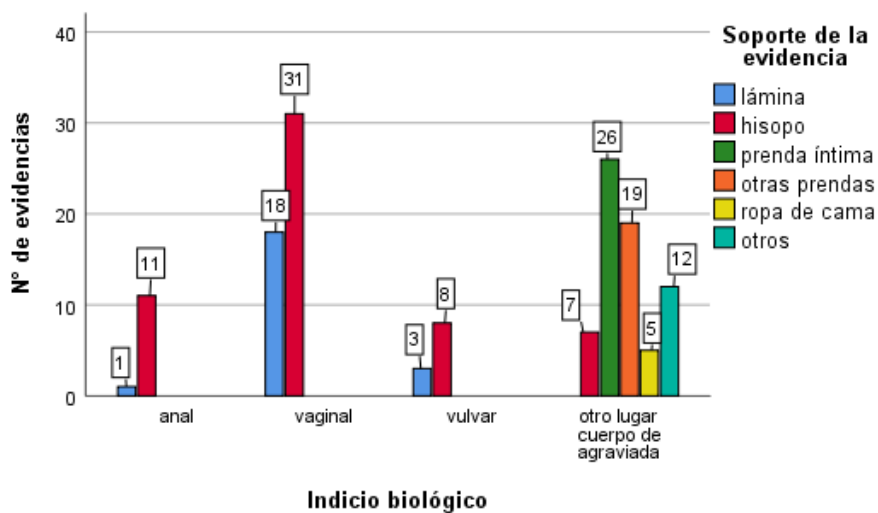
a. 1 casillas (16,7%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 2,84.

Interpretación: Los agresores de 14 a 17 años están asociados a los casos por múltiples agresores y los agresores de 18 a 35 y de 36 a 64 están asociados con los casos de agresor único.

Tipo de indicio biológico

Figura 16.

Indicio biológico y soporte de la muestra



Interpretación: El indicio biológico con mayor frecuencia fue el contenido vaginal cuyos soportes consistieron en 31 hisopos y 18 láminas, seguido de otros fluidos biológicos contenidos en 26 prendas íntimas, 19 otros tipos de prendas y 12 otros tipos de soportes (papel higiénico, preservativo etc), los indicios de contenido anal fueron 11 hisopos y 1 lámina, los indicios de tipo vulvar fueron 8 hisopos y 3 láminas.

- Condiciones de las muestras

Tabla 18.

Preservación de la muestra y soporte de la muestra

		Soporte de la muestra						Total
		lámina	hisopo	prenda íntima	otras prendas	ropa de cama	otros	
Preservación de la muestra	Recuento	22	57	26	15	4	7	131
	bueno % dentro de	100,0	100,0	100,0%	78,9%	80,0%	58,3%	92,9%
	Soporte de la muestra	%	%					
	Recuento	0	0	0	4	1	5	10
	regular % dentro de	0,0%	0,0%	0,0%	21,1%	20,0%	41,7%	7,1%
	Soporte de la muestra							
Total	Recuento	22	57	26	19	5	12	141
	% dentro de	100,0	100,0	100,0%	100,0%	100,0%	100,0	100,0
	Soporte de la muestra	%	%				%	%

El 100 % de los soportes: láminas, hisopos y prendas íntima se encontraban en estado bueno de preservación, los soportes de otras prendas el 78,9 % de se encontraban en estado bueno y el 21,1 % en estado regular, los soportes ropa de cama el 80 % en estado bueno y el 20 % en estado regular, en el caso de otros tipos de soportes (papel higiénico, preservativos etc) el 58,3 % estuvieron en estado bueno y el 41,7 % en estado regular.

Tabla 19.

Relación preservación de la muestra y soporte de la muestra

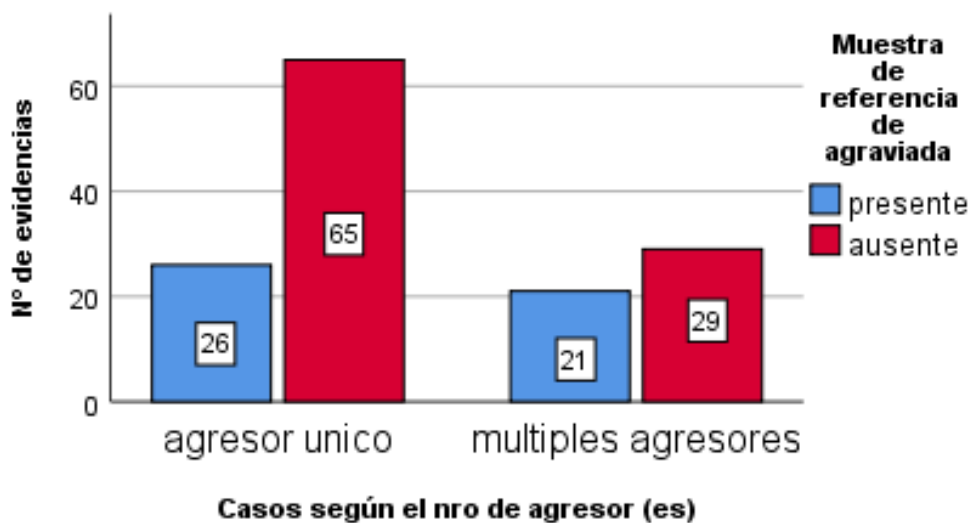
	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	36,669 ^a	5	,000
Razón de verosimilitud	31,335	5	,000
Asociación lineal por lineal	29,559	1	,000
N de casos válidos	141		

a. 7 casillas (58,3%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es ,35.

Interpretación: Existe una relación entre la preservación de las evidencias y el soporte de las evidencias con una significancia asintótica bilateral de Chi cuadrado de Pearson menor de 0,05.

Figura 17.

Muestras de referencia de la agraviadas(s) y casos según el número de agresor(es)



Interpretación: La muestra de referencia de la agraviada estuvo presente en 26 casos con agresor único y 21 casos por múltiples agresores, asimismo la muestra de referencia de la

agraviada no estuvo presente en 65 casos por agresor único y 29 casos por múltiples agresores, por lo que generalmente no se cuenta muchas veces con esta muestra de referencia que es importante para la discriminación de alelos en los perfiles genéticos mezcla.

Tabla 20.

Cuantificación de ADN autosómico y Cuantificación del cromosoma Y

		Cuantificación ADN Autosómico	Cuantificación Cromosoma Y
Tau_b de Kendall	Cuantificación ADN Autosómico	Coeficiente de correlación	,619**
		Sig. (bilateral)	,000
		N	138
Rho de Spearman	Cuantificación Cromosoma Y	Coeficiente de correlación	1,000
		Sig. (bilateral)	,000
		N	138
Rho de Spearman	Cuantificación ADN Autosómico	Coeficiente de correlación	,701**
		Sig. (bilateral)	,000
		N	138

** . La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

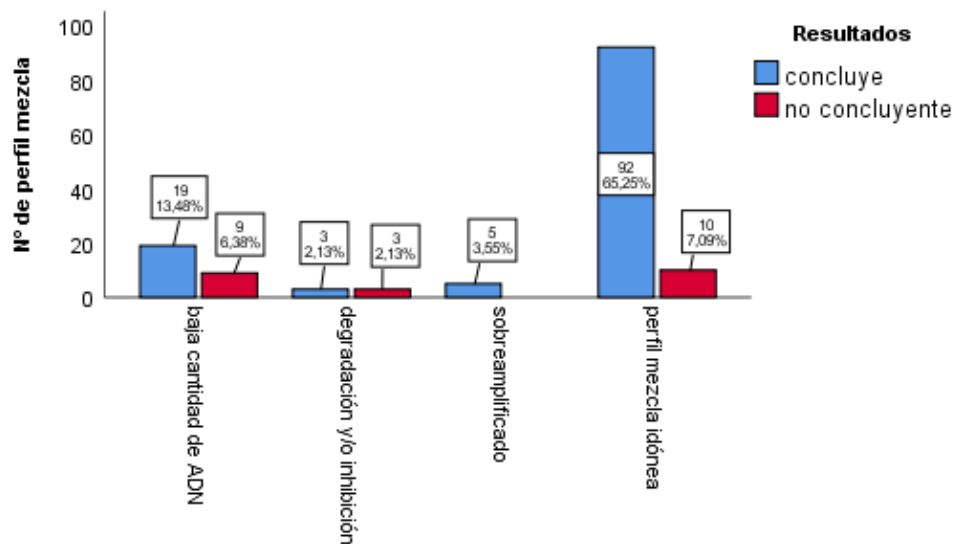
Interpretación: Existe una correlación significativa entre la cuantificación del ADN autosómico y la cuantificación del ADN del Cromosoma-Y en las evidencias forenses. Es decir, generalmente en los perfiles genéticos mezcla a la vez que en el proceso de cuantificación se obtiene ADN autosómico humano, también se obtiene ADN del Cromosoma-Y, el cual es exclusivo de individuos de sexo masculino y que se encuentra presente en evidencias que corresponden a agraviadas por violencia sexual.

Tabla 21.*Cuantificación de ADN autosómico y Cuantificación del cromosoma Y*

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	14,737 ^a	3	,002
Razón de verosimilitud	13,197	3	,004
N de casos válidos	141		

a. 4 casillas (50,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es ,78.

Interpretación: Existe una relación entre la cuantificación de ADN autosómico y la cuantificación de ADN del Cromosoma sexual Y.

Figura 18.*Muestras críticas en el componente minoritario y cálculo de verosimilitud*

Interpretación: Los perfiles genéticos mezcla con baja cantidad de ADN en el componente minoritario el 13,48 % dieron resultados concluyentes (inclusión y/o exclusión), el 6,38 % dieron resultados no concluyentes, los resultados con los perfiles mezcla con presencia de degradación y/o inhibición presentaron el 2,3 % tanto de

resultados concluyentes y no concluyentes, en el caso de los perfiles mezcla sobre amplificados el 3,55 % otorgaron resultados concluyentes y los perfiles mezcla idóneos el 65,25 % dieron resultados concluyentes y el 7,9 % resultados no concluyentes.

Tabla 22.

Asociación muestras críticas en el componente minoritario y cálculo de verosimilitud

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	14,737 ^a	3	,002
Razón de verosimilitud	13,197	3	,004
N de casos válidos	141		

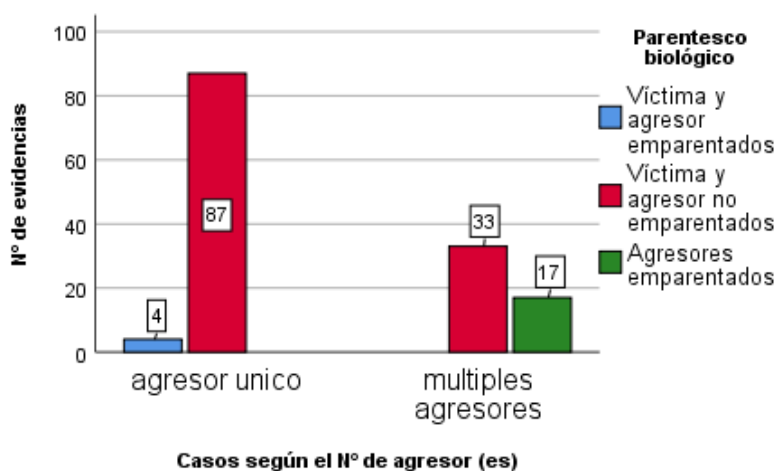
a. 4 casillas (50,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es ,78.

Existe una asociación entre perfiles genéticos idóneos y resultados concluyentes (inclusión y/o exclusión).

- Evidencias forenses de casos de violación sexual por múltiples agresores

Figura 19.

Parentesco biológico y casos según el número de agresor(es)



Interpretación: 87 evidencias por agresor único la víctima y el agresor se encuentran emparentados, 4 evidencias por agresor único la víctima y el agresor no están

emparentados y 33 evidencias por múltiples agresores tampoco se encuentran emparentados y 17 evidencias por múltiples agresores se encuentran emparentados.

Tabla 23.

Relación parentesco biológico y casos según el número de agresor(es)

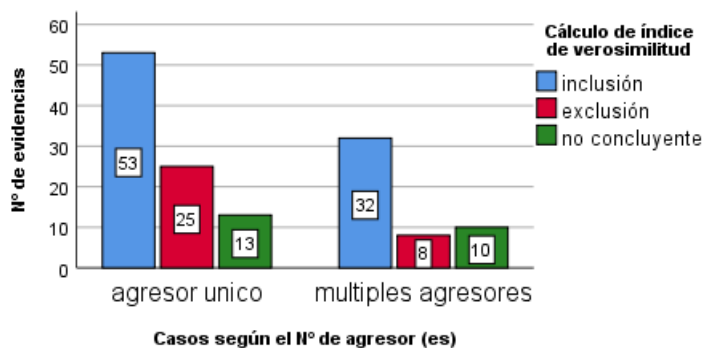
	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	36,461 ^a	2	,000
Razón de verosimilitud	42,211	2	,000
Asociación lineal por lineal	33,635	1	,000
N de casos válidos	141		

a. 2 casillas (33,3%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 1,42.

Interpretación: Existe una asociación entre los casos con agresor único y el parentesco biológico de víctima y agresor, así como los casos de múltiples agresores con el vínculo biológico de agresores.

Figura 20.

Cálculo de índice de verosimilitud y casos según el número de agresor(es)



Interpretación: El gráfico muestra 53 evidencias con agresor único y 32 evidencias con múltiples agresores son inclusiones, 25 evidencias con agresor único y 8 evidencias con

múltiples agresores son exclusiones y 13 evidencias con agresor único y 10 evidencias con múltiples agresores fueron no concluyentes.

Tabla 24.

Cálculo de índice de verosimilitud y comparación con muestras de referencia

		Cálculo de índice de verosimilitud				
				no		
			inclusión	exclusión	concluyente	Total
Comparación con muestras de referencia	01 agresor	Recuento	53	25	13	91
		% dentro de Cálculo de índice de verosimilitud	62,4%	75,8%	56,5%	64,5%
	02 agresores	Recuento	15	2	4	21
		% dentro de Cálculo de índice de verosimilitud	17,6%	6,1%	17,4%	14,9%
	03 agresores	Recuento	1	0	4	5
		% dentro de Cálculo de índice de verosimilitud	1,2%	0,0%	17,4%	3,5%
	más de 03 agresores	Recuento	16	6	2	24
		% dentro de Cálculo de índice de verosimilitud	18,8%	18,2%	8,7%	17,0%
	Total	Recuento	85	33	23	141
		% dentro de Cálculo de índice de verosimilitud	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Interpretación: El 62,4 % de los casos con 01 agresor, el 17,6 % de los casos con 02 agresores, 1,2 % de los casos con 03 agresores y el 18,8 % de los casos con más de 03 agresores dieron como resultados inclusión, el 75,8 % de los casos con 01 agresor, el 6,1 % de los casos con 02 agresores y el 18,2 % de los casos con más de 03 agresores dieron como resultados exclusión y el 56,5 % de los casos con 01 agresor, el 17,4 % de los casos con 02 agresores, 17,4 % de los casos con 03 agresores y el 8,7 % de los casos con más de 03 agresores no otorgaron un resultado concluyente.

Tabla 25.

Relación cálculo de índice de verosimilitud y comparación con muestras de referencia

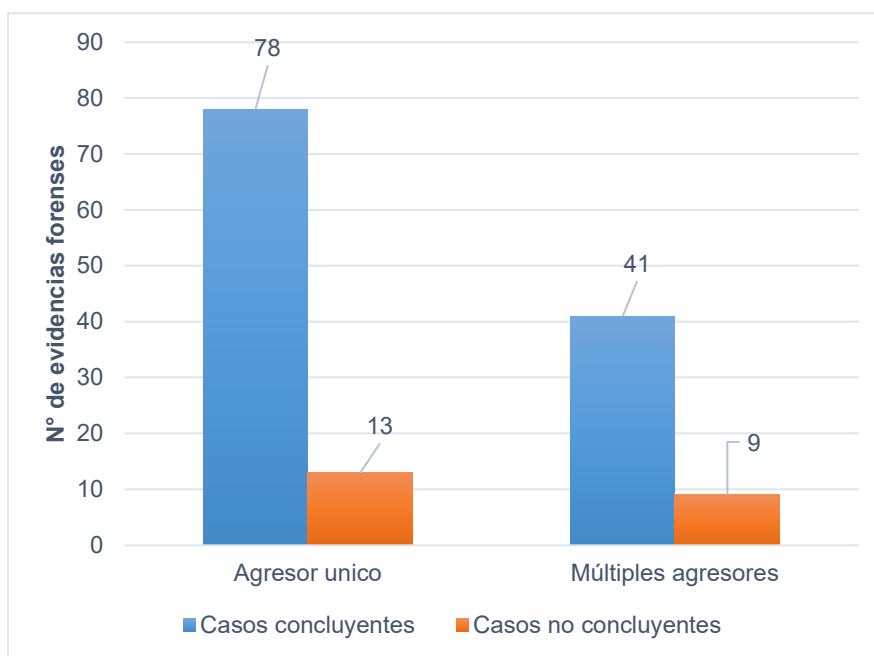
	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	19,267 ^a	6	,004
Razón de verosimilitud	15,485	6	,017
Asociación lineal por lineal	,028	1	,867
N de casos válidos	141		

a. 6 casillas (50,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es ,82.

Interpretación: Existe una asociación entre los casos con 01 agresor y los resultados concluyentes como inclusión y exclusión.

Figura 21.

Resultados de índice de verosimilitud y casos según el número de agresor(es).



Interpretación: Las evidencias concluyentes fueron 78 para casos con agresor único y 41 para casos con múltiples agresores, los casos no concluyentes fueron 13 para casos con agresor único y 9 para casos con múltiples agresores.

4.1.2. Prueba de hipótesis.

Hipótesis General: Se cumple con los criterios de análisis de perfiles genéticos mezcla, en las evidencias forenses de violencia sexual de mujeres peruanas, en la Unidad de Biología Molecular y Genética de Lima; 2019-2020.

- Hipótesis estadística

H_0 : No se cumple con los criterios de análisis de perfiles genéticos mezcla, en las evidencias forenses de violencia sexual.

H_1 : se cumple con los criterios de análisis de perfiles genéticos mezcla, en las evidencias forenses de violencia sexual.

- Nivel de significancia: $\alpha = 0.05$

Decisión: si $P \geq \alpha$, se acepta la H_0 .

Si $p < \alpha$: Se rechaza la H_0

- Prueba estadística

	Categoría	N	Prop. observada	Prop. de prueba	Significación exacta (bilateral)
criterios de interpretación	Grupo 1 no cumple los criterios	28	,20	,50	,000
	Grupo 2 cumple los criterios	113	,80		
Total		141	1,00		

- **Conclusión:** el p -valor del contraste (Significancia exacta (bilateral) es 0,000 por lo que se debe rechazar la H_0 . Por tanto, se cumple con los criterios de análisis de perfiles genéticos mezcla, en las evidencias forenses de violencia sexual.

Hipótesis específica 1: Se cumple con la aplicación de los umbrales generales en el análisis de perfiles genéticos mezcla en evidencias forenses en casos penales de violencia sexual de un solo agresor de mujeres peruanas, en la Unidad de Biología Molecular y Genética; 2019-2020.

- Hipótesis estadística

H_0 : No Se cumple con la aplicación de los umbrales generales en el análisis de perfiles genéticos mezcla en evidencias forenses en casos penales de violencia sexual de un solo agresor de mujeres peruanas.

H_1 : Se cumple con la aplicación de los umbrales generales en el análisis de perfiles genéticos mezcla en evidencias forenses en casos penales de violencia sexual de un solo agresor de mujeres peruanas.

- Nivel de significancia: $\alpha = 0.05$

Decisión: si $P \geq \alpha$, se acepta la H_0 .

Si $p < \alpha$: Se rechaza la H_0

- Prueba estadística

		Categoría	N	Prop. observada	Prop. de prueba	Significación exacta (bilateral)
umbrales en casos con agresor único	Grupo 1	No cumple con los umbrales generales	83	,91	,50	,000
	Grupo 2	Cumple con los umbrales generales	8	,09		
Total			91	1,00		

Conclusión: el p -valor del contraste (Significancia exacta (bilateral)) es 0,000 por lo que se debe rechazar la H_0 . Por tanto, se cumple con la aplicación de los umbrales generales en el análisis de

perfiles genéticos mezcla en evidencias forenses en casos penales de violencia sexual de un solo agresor de mujeres peruanas.

Hipótesis específica 2: Se cumple con la aplicación de los umbrales generales en el análisis de perfiles genéticos mezcla en evidencias forenses en casos penales de violencia sexual por múltiples agresores de mujeres peruanas, en la Unidad de Biología Molecular y Genética; 2019-2020.

- Hipótesis estadística

H_0 : No Se cumple con la aplicación de los umbrales generales en el análisis de perfiles genéticos mezcla en evidencias forenses en casos penales de violencia sexual por múltiples agresores de mujeres peruanas.

H_1 : Se cumple con la aplicación de los umbrales generales en el análisis de perfiles genéticos mezcla en evidencias forenses en casos penales de violencia sexual por múltiples agresores de mujeres peruanas.

- Nivel de significancia: $\alpha = 0.05$

Decisión: si $P \geq \alpha$, se acepta la H_0 .

Si $p < \alpha$: Se rechaza la H_0

- Prueba estadística

	Categoría	N	Prop. observada	Prop. de prueba	Significación exacta (bilateral)
Umbrales en casos con múltiples agresores	Grupo 1 No cumple con los umbrales generales	45	,90	,50	,000
	Grupo 2 Cumple con los umbrales generales	5	,10		
Total		50	1,00		

Conclusión: el p -valor del contraste (Significancia exacta (bilateral) es 0,000 por lo que se debe rechazar la H_0 . Por tanto, se cumple con la aplicación de los umbrales generales en el análisis de perfiles genéticos mezcla en evidencias forenses en casos penales de violencia sexual de múltiples agresores de mujeres peruanas.

Hipótesis específica 3: Es clara la interpretación de perfiles genéticos mezcla para su aplicación en evidencias forenses de violencia sexual en casos penales de un solo agresor de mujeres peruanas, en la Unidad de Biología Molecular y Genética; 2019-2020.

- Hipótesis estadística

H_0 : NO es clara la interpretación de perfiles genéticos mezcla para su aplicación en evidencias forenses de violencia sexual en casos penales de un solo agresor de mujeres peruanas.

H_1 : Es clara la interpretación de perfiles genéticos mezcla para su aplicación en evidencias forenses de violencia sexual en casos penales de un solo agresor de mujeres peruanas.

- Nivel de significancia: $\alpha = 0.05$

Decisión: si $P \geq \alpha$, se acepta la H_0 .

Si $p < \alpha$: Se rechaza la H_0

- Prueba estadística

	Categoría	N	Prop. observada	Prop. de prueba	Significación exacta (bilateral)
Grupo 1	No son interpretables los perfiles mezcla	14	,15	,50	,000

Grupo 2	Son	77	,85
	interpretables		
	los perfiles		
	mezcla		
Total		91	1,00

Conclusión: el p -valor del contraste (Significancia exacta (bilateral) es 0,000 por lo que se debe rechazar la H_0 . Por tanto, es clara la interpretación de perfiles genéticos mezcla para su aplicación en evidencias forenses de violencia sexual en casos penales de un solo agresor de mujeres peruanas.

Hipótesis específica 4: Es clara la interpretación de perfiles genéticos mezcla para su aplicación en evidencias forenses de violencia sexual en casos penales por múltiples agresores de mujeres peruanas, en la Unidad de Biología Molecular y Genética; 2019-2020.

- Hipótesis estadística

H_0 : NO es clara la interpretación de perfiles genéticos mezcla para su aplicación en evidencias forenses de violencia sexual en casos penales por múltiples agresores de mujeres peruanas.

H_1 : Es clara la interpretación de perfiles genéticos mezcla para su aplicación en evidencias forenses de violencia sexual en casos penales por múltiples agresores de mujeres peruanas.

- Nivel de significancia: $\alpha = 0.05$

Decisión: si $P \geq \alpha$, se acepta la H_0 .

Si $p < \alpha$: Se rechaza la H_0

- Prueba estadística

	Categoría	N	Prop. observada	Prop. de prueba	Significación exacta (bilateral)	
Interpretación de perfiles mezcla	Grupo 1	No son interpretables los perfiles mezcla	40	,80	,50	,000
	Grupo 2	Son interpretables los perfiles mezcla	10	,20		
	Total		50	1,00		

Conclusión: el p -valor del contraste (Significancia exacta (bilateral)) es 0,000 por lo que se debe rechazar la H_0 . Por tanto, es clara la interpretación de perfiles genéticos mezcla para su aplicación en evidencias forenses de violencia sexual en casos penales por múltiples agresores de mujeres peruanas.

4.1.3. Discusión de resultados

La interpretación de los perfiles genéticos en UNBIMOG se realiza a criterio del analista, quien a su vez se apoya de los criterios internacionales de la comunidad científica para establecer los umbrales generales de interpretación, por lo que el análisis se realiza de manera cualitativa, más no cuantitativa debido a la falta de presupuesto, para lo cual los peritos debemos asegurarnos con usar controles en los procesos de extracción, cuantificación y amplificación, así mismo las evidencias se trabajan por duplicado y empleamos el cromosoma sexual Y, básicamente para excluir e incluir en casos no exista algún otro involucrado familiar del perpetrador. Así mismo, al igual que los participantes del ejercicio colaborativo GHEP-ISFG (Crespillo et al., 2014) donde de los países latinoamericanos que participaron el Perú no fue partícipe, en UNBIMOG, también se tiene dificultad para discriminar los picos detectados en posición stutter en los

perfiles mezcla y más aún cuando no poseemos umbrales validados internamente, también nos ceñimos a aplicar un umbral analítico igual o mayor de 50 RFU para todos los marcadores genéticos utilizados, no obstante deberíamos realizar una validación interna de los umbrales de análisis de perfiles genéticos mezcla.

Al existir una relación entre la cuantificación de marcadores STR autosómico y marcadores del Cromosoma Y, su presencia hizo más factible ayudarse con este sistema cuando se tiene agresores múltiples, perfiles complicados coincidiendo con lo señalado por Purps, et al., (2015), por lo que es una gran variable en la interpretación de perfiles mezcla.

De los 21 marcadores utilizados de acuerdo al kit de amplificación investigator 24 plex QS para la amplificación de las evidencias de violación sexual se observa que al igual que Kraemer, et al., (2017), el kit es robusto para la obtención de perfiles mezcla, no obstante no hemos realizado una validación interna de dicho kit en UNBIMOG, debido a que las autoridades indicaban que se requería un presupuesto para dicho proceso, esto evidencia el desconocimiento de las autoridades de la importancia de la validación interna de perfiles genéticos, esta problemática es común en muchos laboratorios de Latinoamérica según Zelaya, et al., (2017) debido a que la interpretación de perfiles mezcla es un tema que requiere reforzamiento de criterios y al igual que en Perú se interpreta de acuerdo a los resultados del electroferograma (perfiles genéticos) y el LR del cálculo de comparación entre las evidencias y las muestras indubitadas. No obstante, el Perú deberá adecuarse a realizar procesos de validación de los kits que utiliza debido a que existe a nivel mundial un aumento a la tendencia de validar los análisis de perfiles mezcla como se indica en Barrio, et al., (2018).

En este estudio existe una relación entre la buena preservación de las evidencias con los tipos de soporte que la contengan siendo los mejores soportes en los casos de violencia sexual:

las láminas, hisopos y prendas íntimas por lo que en un buen estado de las muestras se obtendrá perfiles genéticos óptimos, tal como afirma Valdés (2019).

Según Dembinski, et al., (2018) la asignación del número de contribuyentes es esencial para interpretar eficazmente los perfiles de ADN, donde la tendencia general acerca de la precisión del número de contribuidores en el perfil mezcla es más difícil a medida que aumenta el número de contribuyentes, e incluso en el número de marcadores por lo que la discriminación de mezclas de cuatro, cinco y seis personas es compleja, en este estudio se encontró una asociación entre una combinación genotípica de 5 a 6 alelos y mayor de 6 alelos con las mezclas tipo b: mezclas con contribuyentes indistinguibles, es decir esto dificulta la interpretación de perfiles mezcla.

El 84 % de las evidencias forenses analizadas mediante el análisis de perfiles mezcla dieron resultados concluyentes es decir inclusiones y/o exclusiones, los cuales son de gran utilidad para la administración de justicia por lo que se concuerda con Palomino (2018) que indica que las pericias de ADN, influyen en la investigación de los delitos de violación sexual, donde además se determina la culpabilidad o inculpabilidad de los involucrados como asegura Avellaneda (2018).

La detección del Cromosoma sexual Y durante el proceso de cuantificación, en las evidencias biológicas que pertenecen a mujeres peruanas, asegura la sensibilidad y especificidad de las técnicas de biología forense: microscopía y bioquímica en el reconocimiento de espermatozoides como asegura García (2019) y que es de gran utilidad en la resolución de casos de violencia sexual, porque nos indica que existe un componente masculino en la muestra, Así mismo no debe pasar mucho tiempo en la colecta de dichas muestras según Martínez (2018).

Los cálculos de verosimilitud de los resultados de inclusión fueron realizados con frecuencias alélicas peruana, si bien es cierto existe diferencias significativas entre la base poblacional peruana e hispana según Delgado (2019), no obstante, dicha diferencia entre las poblaciones sería de mayor impacto en los cálculos de vínculo biológico y no ha sido demostrado en cálculos de homologación genética con evidencias biológicas de asalto sexual.

Gutiérrez (2020), indica que la presencia de inhibidores es la causante de la no amplificación en muestras con ADN crítico, y la degradación en muestras biológicas ocasionan la obtención de perfiles genéticos parciales, en este estudio se determinó que hay una relación de perfiles mezcla idóneos y la obtención de resultados concluyentes (exclusión y/o exclusión).

CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

1. Los perfiles genéticos mezcla obtenidos de las evidencias forenses de violencia sexual de mujeres peruanas, en la Unidad de Biología Molecular y Genética; 2019-2020 cumplen con los criterios de interpretación general del análisis de perfiles genéticos como fue: aprobar los umbrales generales de recomendación por la comunidad científica: donde el 98 % superaron el umbral analítico de 50 RFU, el 82 % superaron el umbral estocástico de $\geq 150-200$ RFU, el 60 % superaron el umbral stutter $< 10-15$ RFU, el 92 % presentaron desbalance de heterocigotos $< 0,6$ RFU. La proporción de contribuyentes de 0.1-1 fue distinguible el 62 % y no distinguible el 18 %, la proporción 0.01-0.09 fue distinguible el 13 % y no distinguible el 5 %, la proporción 0.001-0.009 fue distinguible el 0.7 % y no distinguible el 1 %. Se descartó extra-bandas; donde el 60 % eran bandas stutter y el 40 % bandas stutter y N-bandas, los artefactos; se presentaron en un 44 % como son Pull up, dropping, dye blob y spikes, en cuanto a la evaluación de contaminación en el 94 % el positivo amplifica y el negativo no amplifica, y existe una asociación significativa entre los perfiles estocásticos, degradados y/o inhibidos y los tipos de perfiles mezcla.
2. En los casos penales de un solo agresor si cumple con la aplicación de umbrales generales de recomendación científica. El departamento de Puno es el que remitió

el mayor número de evidencias seguido por Huánuco y Cusco. El agresor único está asociado con agraviadas mujeres menores de 10 años, así como con los agresores de 18 a 64 años, así mismo estuvieron presente 26 muestras de referencia de la agraviada y 65 no estuvieron presente.

3. En los casos penales por múltiples agresores si cumple con la aplicación de umbrales generales de recomendación científica. El departamento de Cusco es el que remitió el mayor número de evidencias seguido por Huánuco, Madre de Dios, Puno y Apurímac. Los múltiples agresores están asociados con agraviadas mujeres mayores de 18 años, así como con los agresores de 14 a 17 años, así mismo estuvieron presente 21 muestras de referencia de la agraviada y 29 no estuvieron presente esto ocasionó mayor dificultad en la interpretación.
4. Los perfiles genéticos mezcla fueron interpretables en casos penales de un solo agresor, es decir en dichas evidencias fue posible descartar extra-bandas, artefactos, no contaminación, establecer la combinación genotípica, perfiles con efectos estocásticos, degradados y/o inhibidos, así como reconocer los tipos de perfiles mezcla, existe una asociación entre el agresor y el parentesco biológico de la víctima, además estos casos están relacionados con los resultados concluyentes como son inclusión y exclusión. Los casos concluyentes fueron 78 evidencias y los casos no concluyentes fueron 13 evidencias.
5. Los perfiles genéticos mezcla fueron interpretables en casos penales de múltiples agresores es decir es posible descartar extra-bandas, artefactos, no contaminación, establecer la combinación genotípica, perfiles con efectos estocásticos, degradados y/o inhibidos, así como reconocer los tipos de perfiles mezcla, y

existe una asociación entre los múltiples agresores y el vínculo biológico de los agresores. Los casos concluyentes fueron 41 evidencias y los casos no concluyentes 9 evidencias.

5.2. Recomendaciones

1. Es necesario que la Unidad de Biología Molecular y Genética del Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses, realice la validación interna de los umbrales de referencia: umbral analítico, umbral estocástico, umbral stutter, umbral desbalance de heterocigotos para cada uno de los kits de marcadores genéticos STRs autosómicos que utilice el laboratorio, para poder realizar la interpretación adecuada de los perfiles mezcla acorde a las condiciones del laboratorio para su valoración de las mismas y estar acorde con la estandarización de laboratorios a nivel internacional.
2. Se debe tener a consideración la amplificación por duplicado de extractos de ADN de las evidencias forenses de asalto sexual, uso de los controles positivo y negativo para asegurar la no contaminación de las evidencias y el uso de marcadores del Cromosoma sexual Y, básicamente para asegurar las exclusiones.
3. Las Unidades Médico Legal que apoyan con las pruebas preliminares de Biología Forense y remiten las evidencias para la prueba de homologación de ADN, deben procurar remitir también la muestra de referencia de la agraviada, lo cual es de gran importancia para discriminar los alelos de la misma en los perfiles mezcla.
4. Se debe implementar una base de perfiles genéticos de sospechosos de violencia sexual, evidencias forenses de asalto sexual, así como de los perfiles genéticos de

los colaboradores que toman muestras, procesan y remiten las evidencias en Biología Forense a la UNBIMOG.

REFERENCIAS

- Avellaneda Vásquez, R. E. (2018). La importancia de la prueba del ADN en los procesos penales en el Distrito Judicial de Chiclayo.
- Barrio PA, Crespillo M, Luque JA, Aler M, Baeza-Richer C, Baldassarri L, Carnevali E, Coufalova P, Flores I, García O, García MA, González R, Hernández A, Inglés V, Luque GM, Mosquera-Miguel A, Pedrosa S, Pontes ML, Porto MJ, Posada Y, Ramella MI, Ribeiro T, Riego E, Sala A, Saragoni VG, Serrano A, Vannelli S. (2018). GHEP-ISFG collaborative exercise on mixture profiles (GHEP-MIX06). Reporting conclusions: results and evaluation. *Forensic Science International: Genetics*, 35, 156-163.
- Bermejo, M. E. V., Ge, J., Budowle, B., Valdez, C. I., & Neyra-Rivera, C. D. (2022). Genetic study with 21 autosomal STRs in five Peruvian macro regions for human identification purposes. *Legal Medicine*, 57, 102073.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S134462232200061X>
- Benschop, C., Haned, H., & Sijen, T. (2013). Consensus and pool profiles to assist in the analysis and interpretation of complex low template DNA mixtures. *International journal of legal medicine*, 127(1), 11-23.
- Boavida, A. S. C. (2017). Validação de um kit de amplificação por PCR: PowerPlex® Fusion 6C System, Promega (Doctoral dissertation, Universidade de Coimbra).
<https://estudogeral.sib.uc.pt/handle/10316/82449>.
- Bregu, J., Conklin, D., Coronado, E., Terrill, M., Cotton, R. W., & Grgicak, C. M. (2013). Analytical thresholds and sensitivity: establishing RFU thresholds for forensic DNA analysis. *Journal of Forensic Sciences*, 58(1), 120-129.

- Buckleton, J. S., Bright, J. A., Cheng, K., Budowle, B., & Coble, M. D. (2018). NIST interlaboratory studies involving DNA mixtures (MIX13): a modern analysis. *Forensic Science International: Genetics*, 37, 172-179.
- Budowle B, Onorato AJ, Callaghan TF, Della Manna A, Gross AM, Guerrieri RA, Luttman JC, McClure DL. (2009). Mixture interpretation: defining the relevant features for guidelines for the assessment of mixed DNA profiles in forensic casework. *Journal of Forensic Sciences*, 54(4), 810-821.
- Butler, J. M. (2005a). Developmental Validation. Validation Workshop, Aug. 24, 2005 at NFSTC. URL: <https://strbase.nist.gov/validation/DevelopmentalValidation.pdf>
- Butler, J. M. (2006). Debunking some urban legends surrounding validation within the forensic DNA community. *Profiles in DNA*, 9(2), 3-6.
- Butler, J. M. & Gittelsohn, S. N (2015). Basic STR Interpretation Workshop, Aug. 31, 2015 at 26th Congress of the ISFG. URL: <https://strbase.nist.gov/training/ISFG2015-Basic-STR-Interpretation-Workshop.pdf>
- Butler, J. M. (2014). *Advanced topics in forensic DNA typing: interpretation*. Academic Press.
- Canle, I. C. I. (2010). La prueba en violencia sexual y en violencia de género: especial referencia a la prueba de ADN. *Revista da Faculdade de Direito UFPR*, 51.
- Carracedo, Á., & Prieto, L. (2014). Valoración de la prueba genética. *ADN forense: Problemas éticos y jurídicos*, 145-156.
- Castro, A., Fernández-Fernández, I., & Martínez de Pancorbo Gómez, M. D. L. A. (1998). Límites de la tecnología basada en el ADN.

Clayton, T. M., Whitaker, J. P., Sparkes, R., & Gill, P. (1998). Analysis and interpretation of mixed forensic stains using DNA STR profiling. *Forensic Science International*, 91(1), 55-70.

CODE, R. (2017). Best Practice Manual for the internal validation of probabilistic software to undertake DNA mixture interpretation. <https://enfsi.eu/wp-content/uploads/2017/09/Best-Practice-Manual-for-the-internal-validation-of-probabilistic-software-to-undertake-DNA-mixture-interpretation-v1.docx.pdf>

Comisión Nacional para el Uso Forense del ADN. (2019). Guía para el Uso Forense del ADN. Ministerio de Justicia. Madrid. <https://www.mjusticia.gob.es/es/ElMinisterio/OrganismosMinisterio/Documents/1292430976691-Guia-para-el-uso-forense-del-ADN.pdf>

Conway, A. (2017). A validation of STRmix™ for forensic casework. University of North Texas Health Science Center at Fort Worth. <https://www.proquest.com/openview/234690a556a331fe600d7306323a864b/1?pq-origsite=gscholar&cbl=18750>

Cortés, M. E., & Iglesias León, M. (2004). Generalidades sobre Metodología de la Investigación. Universidad Autónoma del Carmen.

Crespillo, M., Barrio, P. A., Luque, J. A., Alves, C., Aler, M., Alessandrini, F., & García, M. A. (2014). GHEP-ISFG collaborative exercise on mixture profiles of autosomal STRs (GHEP-MIX01, GHEP-MIX02 and GHEP-MIX03): results and evaluation. *Forensic Science International: Genetics*, 10, 64-72.

Crespillo, M., Luque, J. A., Paredes, M. R., & Barrio, P. A. (2012). Criterios mínimos recomendados para la Aceptación y Evaluación de Perfiles Mezclas.

- Delgado Ramos, E. (2019). Caracterización de 21 marcadores STR autosómicos en una población peruana inmersa en un proceso judicial aplicado a la práctica forense.
- Dembinski, G. M., Sobieralski, C., & Picard, C. J. (2018). Estimation of the number of contributors of theoretical mixture profiles based on allele counting: Does increasing the number of loci increase success rate of estimates? *Forensic Science International: Genetics*, 33, 24-32.
- ENFSI DNA Working Group. (2010). Recommended minimum criteria for the validation of various aspects of the DNA profiling process. Germany: European Network of Forensic Science Institute.
- Enterarse. (2020, 29 de enero). Las cifras de violencia sexual en el Perú. https://www.enterarse.com/20200129_0001-las-cifras-de-violencia-sexual-en-el-peru
- García Vásquez, C. H. (2019). Aplicación de las técnicas de la Inmunocitoquímica PSA y Citoquímica PAS para el reconocimiento e identificación de espermatozoides en muestras forenses por violencia sexual en el Hospital Nacional Alberto Sabogal Soleguren, 2017.
- Grgicak, C. M. (2010, October). Analytical Thresholds: Determination of Minimum Distinguishable Signals. In 21st International Symposium on Human Identification. Mixture Interpretation Workshop: Principles, Protocols and Practice, San Antonio, TX.
- Gill, P., Brenner, C. H., Buckleton, J. S., Carracedo, A., Krawczak, M., Mayr, W. R., & Weir, B. S. (2006). DNA commission of the International Society of Forensic Genetics: recommendations on the interpretation of mixtures. *Forensic science international*, 160(2-3), 90-101.
- Gill, P., Brown, R. M., Fairley, M., Lee, L., Smyth, M., Simpson, N., & Westacott, E. J. (2008). National recommendations of the Technical UK DNA working group on mixture

- interpretation for the NDNAD and for court going purposes. *Forensic Science International: Genetics*, 2(1), 76-82.
- Gill, P., Puch-Solis, R., & Curran, J. (2009). The low-template-DNA (stochastic) threshold—its determination relative to risk analysis for national DNA databases. *Forensic Science International: Genetics*, 3(2), 104-111.
- Goodwin, W., Linacre, A., & Hadi, S. (2011). *An introduction to forensic genetics (Vol. 2)*. John Wiley & Sons.
- González Alonso, J., & Pazmiño Santacruz, M. (2015). Cálculo e interpretación del Alfa de Cronbach para el caso de validación de la consistencia interna de un cuestionario, con dos posibles escalas tipo Likert. *Revista publicado*, 2(1), 62-67.
- Grgicak, C. M. (2010, October). Analytical Thresholds: Determination of Minimum Distinguishable Signals. In *21 st International Symposium on Human Identification. Mixture Interpretation Workshop: Principles, Protocols and Practice*. San Antonio, TX (Vol. 11).
- Gutiérrez Méndez, R. V. (2020). “Perfiles genéticos con ADN crítico en muestras biológicas”.
- Haned, H., & de Jong, J. (2016). *LRmix Studio 2.1 User Manual*.
- Hernández-Sampieri, R., & Torres, C. P. M. (2018). *Metodología de la investigación (Vol. 4)*. México^ eD. F DF: McGraw-Hill Interamericana.
- Horna, A. A. V. (2012). *Desde la idea hasta la sustentación: 7 pasos para una tesis exitosa*. Instituto de Investigación de la Facultad de Ciencias Administrativas y Recursos Humanos. Universidad de San Martín de Porres. Lima.

ISO/IEC 17025:2017, “Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración”.

Kraemer, M., Prochnow, A., Bussmann, M., Scherer, M., Peist, R., & Steffen, C. (2017). Developmental validation of QIAGEN Investigator® 24plex QS Kit and Investigator® 24plex GO! Kit: Two 6-dye multiplex assays for the extended CODIS core loci. *Forensic Science International: Genetics*, 29, 9-20.

López, S. I. B. (2000). Operacionalización de variables. *Hacia la promoción de la salud*, 5, 19-28.
<file:///C:/Users/HP/Downloads/1847-Texto%20del%20art%C3%ADculo-2464-1-10-20200505.pdf>

Magalhães, T., Dinis-Oliveira, R. J., Silva, B., Corte-Real, F., & Nuno Vieira, D. (2015). Biological evidence management for DNA analysis in cases of sexual assault. *The Scientific World Journal*, 2015.

Mariscal, J. D. O. (2011). Propuesta de estándares regionales para la elaboración de protocolos de atención integral temprana a víctimas de violencia sexual. *Promsex*.

Martínez Solís, G. Z. (2018). Estudio de la persistencia de espermatozoides en fondo vaginal de mujeres víctimas de violación sexual peritadas en la DML de Arequipa-2015.

Miozzo, C. M., (2019). Genética forense. En M. R. Ayón. (1a Ed.), *Biología forense* (pp. 174-186). Tucumán, República de Argentina: Fundación Miguel Lillo.

Mullis, K., Faloona, F., Scharf, S., Saiki, R. K., Horn, G. T., & Erlich, H. (1986, January). Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. In *Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology* (Vol. 51, pp. 263-273). Cold Spring Harbor Laboratory Press.

- Palomino Romero, J. O. (2018). Pruebas periciales del delito de violación sexual aportadas por la Dirección de Criminalística-Policía Nacional del Perú, Lima 2017.
- Pérez, B. L., & Ortiz, S. L. (2016). Matriz de consistencia metodológica. Ciencia Huasteca Boletín Científico de la Escuela Superior de Huejutla, 4(8).
<https://repository.uaeh.edu.mx/revistas/index.php/huejutla/article/download/318/4703?inline=1>
- Prada, M. D. S., & Izquierdo, R. M. (2001). Investigación forense del "Asalto sexual". Revista de la Facultad de Medicina, 49(3), 169-174.
- Purps, J., Geppert, M., Nagy, M., & Roewer, L. (2015). Validation of a combined autosomal/Y-chromosomal STR approach for analyzing typical biological stains in sexual-assault cases. Forensic Science International: Genetics, 19, 238-242.
- Qiagen. (2021a). Investigator® 24plex QS Handbook. [file:///C:/Users/HP/Downloads/HB-1860-009_HB_HID_Investigator_24Plex_QS_0221_WW%20\(3\).pdf](file:///C:/Users/HP/Downloads/HB-1860-009_HB_HID_Investigator_24Plex_QS_0221_WW%20(3).pdf)
- Qiagen. (2021b). Investigator® 24plex GO! Handbook. file:///C:/Users/HP/Downloads/HB-1913-008_HB_Inv24plexGO_0221_WW.pdf
- Salgado Lévano, A. (2018). Manual de Investigación. Teoría y práctica para hacer la tesis según la metodología cuantitativa.
https://www.researchgate.net/publication/327097561_Manual_de_Investigacion_Teoria_y_practica_para_hacer_la_tesis_segun_la_metodologia_cuantitativa
- Sampieri, R. H. (2018). Metodología de la investigación: las rutas cuantitativa, cualitativa y mixta. McGraw Hill México.

Schneider, P. M., Gill, P., & Carracedo, A. (2006). Editorial on the recommendations of the DNA commission of the ISFG on the interpretation of mixtures. *Forensic science international*, 160(2-3), 89-90.

Scientific Working Group on DNA Analysis Methods (SWGDAM). (2010). SWGDAM interpretation guidelines for autosomal STR typing by forensic DNA testing laboratories.

Scientific Working Group on DNA Analysis Methods (SWGDAM). (2016). Validation guidelines for DNA analysis methods.

Scientific, T. F. (2017). Quantifiler HP and trio DNA quantification kits user guide. F edn. Thermo Fisher Scientific.

<file:///C:/Users/HP/Desktop/protocolos/Cuantificacin%20quantifiler%20trio.pdf>

Segura, M. A., & FAP, J. S. S. P. D. (2015). Operacionalización de variables. Recuperado de: <http://bvsp.er.paho.org/videosdigitales/matedu/2012investigacionosalud/26,20>.

Slooten, K., & Caliebe, A. (2018). Contributors are a nuisance (parameter) for DNA mixture evidence evaluation. *Forensic Science International: Genetics*, 37, 116-125. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1872497317303046>

Tam, J., & Vera, G. Oliveros. (2008). Tipos, métodos y estrategias de investigación científica. *Pensamiento y acción*. http://www.imarpe.pe/imarpe/archivos/articulos/imarpe/oceanografia/adj_modela_pa-5-145-tam-2008-investig.pdf.

Valdés, A. D. (2019). La implicancia de la calidad de las muestras de ácido desoxirribonucleico con relación a la obtención de patrón genético (Doctoral dissertation).

Vara Horna, A. A. (2015). Los 7 pasos para elaborar una tesis. Perú-Lima. Editorial.



Word CJ (2010a). Peak Height Ratios. ISHI 2010 Mixture Interpretation Workshop: Principles, Protocols, and Practice. San Antonio, TX. October 14, 2010. URL: https://strbase.nist.gov/training/ISHI2010_MixtureWorkshop.htm

Zelaya, M. M., Díaz, C., Penacino, G., De la Luz-Martínez, I., del Carmen Villalobos, M., Gomez, J. L. J., & Arce, V. (2017). Resultados del ejercicio de control de calidad de la Sociedad Latinoamericana de Genética Forense, 2016-2017. *Revista de Ciencias Forenses de Honduras*, 3(2), 7-10.

ANEXOS:

Anexo 1. Matriz de consistencia

Título de la investigación: **Análisis De Perfiles Genéticos Mezcla Y Su Aplicación En Evidencias Forenses De Violencia Sexual De Mujeres Peruanas En UNBIMOG 2019-2020.**

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Variables	Diseño metodológico
<p>Problema general</p> <p>¿Se cumple con los criterios de análisis de perfiles genéticos mezcla, en las evidencias forenses de violencia sexual de mujeres peruanas, en la Unidad de Biología Molecular y Genética de Lima; 2019-2020?</p>	<p>Objetivo general</p> <p>Aplicar criterios de interpretación del análisis de perfiles genéticos mezcla, en evidencias forenses de violencia sexual de mujeres peruanas, en la Unidad de Biología Molecular y Genética; 2019-2020.</p>	<p>Hipótesis</p> <p>Se cumple con los criterios de análisis de perfiles genéticos mezcla, en las evidencias forenses de violencia sexual de mujeres peruanas, en la Unidad de Biología Molecular y Genética de Lima; 2019-2020.</p>	<p>V1. Análisis de perfiles genéticos mezcla</p> <p>Dimensiones:</p> <p>Aplicación de los umbrales generales de análisis de perfiles genéticos mezcla.</p> <p>Interpretación de los perfiles genéticos mezcla</p>	<p>- Tipo de investigación</p> <p>Aplicada, Transversal y descriptiva</p> <p>-Diseño de investigación</p> <p>No experimental.</p> <p>El diseño específico es;</p>
<p>Problemas específicos</p> <p>¿Se cumple con la aplicación de los umbrales generales en el análisis de perfiles genéticos mezcla en evidencias forenses en casos penales de violencia sexual de un solo agresor de mujeres</p>	<p>Objetivos específicos</p> <p>Aplicar los umbrales generales en el análisis de perfiles genéticos mezcla para su aplicación en evidencias forenses de violencia sexual en casos penales de un solo agresor de mujeres peruanas, en la Unidad de Biología</p>	<p>Hipótesis específicas</p> <p>Se cumple con la aplicación de los umbrales generales en el análisis de perfiles genéticos mezcla en evidencias forenses en casos penales de violencia sexual de un solo agresor de mujeres</p>	<p>V2. Evidencias forenses de violencia sexual</p> <p>Dimensiones:</p> <p>Casos penales con evidencias forenses de</p>	<p>Donde:</p> <p></p> <p></p>

peruanas, en la Unidad de Biología Molecular y Genética; 2019-2020?	Molecular y Genética; 2019-2020.	peruanas, en la Unidad de Biología Molecular y Genética; 2019-2020.	violencia sexual de un solo agresor.	M = Evidencias forenses
¿Se cumple con la aplicación de los umbrales generales en el análisis de perfiles genéticos mezcla para su aplicación en evidencias forenses de violencia sexual en casos penales por múltiples agresores de mujeres peruanas, en la Unidad de Biología Molecular y Genética; 2019-2020?	Aplicar los umbrales generales en el análisis de perfiles genéticos mezcla para su aplicación en evidencias forenses de violencia sexual en casos penales por múltiples agresores de mujeres peruanas, en la Unidad de Biología Molecular y Genética; 2019-2020.	Se cumple con la aplicación de los umbrales generales en el análisis de perfiles genéticos mezcla para su aplicación en evidencias forenses de violencia sexual en casos penales por múltiples agresores de mujeres peruanas, en la Unidad de Biología Molecular y Genética; 2019-2020.	Casos penales con evidencias forenses de violencia sexual por múltiples agresores.	Observación de V1= Perfiles genéticos mezcla. Observación de V2= Evidencias forenses de violencia sexual.
¿Es clara la interpretación de perfiles genéticos mezcla para su aplicación en evidencias forenses de violencia sexual en casos penales de un solo agresor de mujeres peruanas, en la Unidad de Biología Molecular y Genética; 2019-2020?	Interpretar los perfiles genéticos mezcla para su aplicación en evidencias forenses de violencia sexual en casos penales de un solo agresor de mujeres peruanas, en la Unidad de Biología Molecular y Genética; 2019-2020.	Es clara la interpretación de perfiles genéticos mezcla para su aplicación en evidencias forenses de violencia sexual en casos penales de un solo agresor de mujeres peruanas, en la Unidad de Biología Molecular y Genética; 2019-2020.		-Población 1200 evidencias forenses de violación sexual de mujeres peruanas son remitidas a la Unidad de Biología Molecular y Genética, durante los años 2020 y 2021.
¿Es clara la interpretación de perfiles genéticos	Interpretar los perfiles genéticos mezcla para su aplicación en evidencias	Es clara la interpretación de perfiles genéticos		-Muestra Se estudió 141 evidencias forenses de víctimas peruanas de agresión sexual que fueron remitidas a la Unidad de Biología Molecular y Genética durante los años 2020 y

mezcla para su aplicación en evidencias forenses de violencia sexual en casos penales por múltiples agresores de mujeres peruanas, en la Unidad de Biología Molecular y Genética; 2019-2020?	forenses de violencia sexual en casos penales por múltiples agresores de mujeres peruanas, en la Unidad de Biología Molecular y Genética; 2019-2020.	mezcla para su aplicación en evidencias forenses de violencia sexual en casos penales por múltiples agresores de mujeres peruanas, en la Unidad de Biología Molecular y Genética; 2019-2020.	2021, que cumplen con los criterios de inclusión y de exclusión. El muestreo será no probabilístico por muestreo de juicio.
--	--	--	---

Anexo 2. Instrumento de recolección de los datos

ANÁLISIS DE PERFILES GENÉTICOS MEZCLA Y SU APLICACIÓN EN EVIDENCIAS FORENSES DE VIOLENCIA SEXUAL DE MUJERES PERUANAS EN UNBIMOG 2019-2020

Variable 1. Perfiles genéticos mezcla

La presente ficha tiene como objetivo recopilar datos para el análisis de los perfiles genéticos mezcla para ser aplicado en los casos con evidencias de violencia sexual en mujeres peruanas.

Nº	ITEMS			
1.	Umbral Analítico (UA)			
A	≥ 50 (alelo)	B	< 50 (no alelo)	
2.	Umbral Estocástico (UE)			
A	> 150 – 200 RFUs (sin pérdida alélica)	B	≤150 – 200 RFUs (con pérdida alélica)	
3.	Umbral Stutter (US)			
A	≥ 10 a 15 % (alelo)	B	< 10 a 15 % (Stutter)	
4.	Umbral de desbalance de Heterocigotos (Hb)			
A	> 0,6	B	≤ 0,6	
5.	Proporción de contribuyentes			
A	0.001-0.009	B	0.01-0.09	C 0.1-1
6.	Contribuyentes principales y secundarios			
A	Distinguible	B	No distinguishable	
7.	Extrabandas: Stutter, trialelos, N bandas, pull ups			
A	Presencia	B	Ausencia	
8.	Artefactos: pull-up, droping, dye-blob, spikes			
A	Presencia	B	Ausencia	
9.	Evaluación de contaminación: Controles positivo y negativo			
A	positivo amplifica y negativo no amplifica	B	positivo y negativo no amplifican	C positivo y negativo amplifican
10.	Combinación genotípica de los componentes de la mezcla			
A	1-2 alelos	B	3-4 alelos	C 5-6 alelos D >6 alelos
11.	Perfiles con efectos estocásticos, degradación y/o inhibición			
A	Presencia	B	Ausencia	

12.	Tipos de perfiles genéticos mezcla				
A	Tipo a: Mezclas con contribuyentes distinguibles	B	Tipo b: Mezclas con contribuyentes indistinguibles	C	Tipo c: Mezclas con efectos estocásticos y/o degradadas

ANÁLISIS DE PERFILES GENÉTICOS MEZCLA Y SU APLICACIÓN EN EVIDENCIAS FORENSES DE VIOLENCIA SEXUAL DE MUJERES PERUANAS EN UNBIMOG 2019-2020

Variable 2. Evidencias forenses de violencia sexual.

La presente ficha tiene como objetivo recopilar datos para el análisis de los perfiles genéticos mezcla para ser aplicado en los casos con evidencias de violencia sexual en mujeres peruanas.

N°	ITEMS										
13	Ubicación										
A	LIMA y provincias	B	NORTE Peruano	C	CENTRO peruano	D	SUR peruano				
14	Edad agraviada (s)										
A	< 10	B	10 a 17	C	18 a 25	D	> 25				
15	Edad Agresor (es)										
A	< 18	B	18 a 30	C	31 a 60	D	>60				
16	Tipo de indicio biológico										
A	anal	B	vaginal	C	vulva r	D	otro lugar de cuerpo de agraviada	E	otros		
17	Soporte que contiene la muestra										
A	lámina	B	hisopo	C	Prenda íntima	D	Otras prendas	E	Ropa de cama	F	otros
18	Preservación de las muestras										
A	Bueno: Cumple con la norma de bioseguridad de preservación y embalaje.		B	Regular: Cumple en parte con la norma de bioseguridad de preservación y embalaje.		C	Malo: No cumple con la norma de bioseguridad de preservación y embalaje				
19	Muestra de referencia de la agraviada										
A	Presente			B	Ausente						

20	Cuantificación ADN autosómico (ng)								
A	0.002 a 0.01	B	0.02 a 0.5	C	0.6 a 2	D	3 a 10	E	> 10
21	Cuantificación Cromosoma Y (ng)								
A	0.002 a 0.01	B	0.02 a 0.5	C	0.6 a 2	D	3 a 10	E	> 10
22	Muestras críticas en el componente minoritario								
A	Baja cantidad ADN	B	degradación	C	inhibidas	D	Sobre-amplificado	E	ninguna
23	Parentesco biológico								
A	Víctima y agresor emparentados	B	Víctima y agresor no emparentados	C	Agresores emparentados	D	Agresores no emparentados		
24	Comparación con muestra de referencia								
A	01 Agresor	B	02 Agresores	C	03 Agresores	D	Más de 3 Agresores		
25	Cálculo del índice de Verosimilitud								
A	Inclusión	B	Exclusión	C	No concluyente				

Anexo 3. Validez del instrumento

Validez basado en el contenido a través de la V de Aiken																										
PERTINENCIA																										
	p1	p2	p3	p4	p5	p6	p7	p8	p9	p10	p11	p12	p13	p14	p15	p16	p17	p18	p19	p20	p21	p22	p23	p24	p25	
Experto 1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	MD = 0
Experto 2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	D = 1
Experto 3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	A = 2
Experto 4	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	MA = 3
Experto 5	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
suma	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	
Vaiken	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	
\bar{X}	0.83333																									
DE	1.1E-16																									
Todas las preguntas son muy pertinentes																										

RELEVANCIA																										
	p1	p2	p3	p4	p5	p6	p7	p8	p9	p10	p11	p12	p13	p14	p15	p16	p17	p18	p19	p20	p21	p22	p23	p24	p25	
Experto 1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	MD = 0
Experto 2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	D = 1
Experto 3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	A = 2
Experto 4	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	MA = 3
Experto 5	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
suma	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	
Vaiken	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	
\bar{X}	0.83333																									
DE	1.1E-16																									
Las preguntas son muy relevantes																										

	CLARIDAD																											
	p1	p2	p3	p4	p5	p6	p7	p8	p9	p10	p11	p12	p13	p14	p15	p16	p17	p18	p19	p20	p21	p22	p23	p24	p25			
Experto 1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	MD = 0	
Experto 2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	D = 1	
Experto 3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	A = 2	
Experto 4	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	MA = 3	
Experto 5	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3		
suma	14	14	14	14	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15			
Vaiken	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8			
\bar{X}	0.82444																											
DE	0.02079																											
	Las preguntas son muy claras																											

Fuente: programa Excel 2016

Anexo 4. Certificados de validez

Certificado de validez experto 1: variable 1

Certificado de validez de contenido del instrumento: Análisis De Perfiles Genéticos Mezcla y su Aplicación En Evidencias Forenses De Violencia Sexual De Mujeres Peruanas En UNBIMOG 2019-2020

N°	DIMENSIONES / ítems Variable 1: Perfiles genéticos mezcla	Pertinencia ¹				Relevancia ²				Claridad ³				Sugerencias
		M	D	A	MA	M	D	A	MA	M	D	A	MA	
DIMENSIÓN 1: UMBRALES GENERALES DE PERFILES GENETICOS														
1	Umbral Analítico (UA)				X				X				X	
2	Umbral Estocástico (UE)				X				X				X	
3	Umbral Stutter (US)				X				X				X	
4	Umbral de desbalance de Heterocigotos (Hb)				X				X				X	
5	Proporción de contribuyentes				X				X				X	
6	Contribuyentes principales y secundarios				X				X				X	
DIMENSIÓN 2: INTERPRETACIÓN DE PERFILES GENETICOS MEZCLA														
7	Banda stutter , anomalías cromosómicas, 'N' bandas				X				X				X	
8	Pull ups, drooping , dye, spikes, blob				X				X				X	
9	Evaluación de contaminación: controles positivo y negativo				X				X				X	
10	Combinación genotípica de los componentes de la mezcla				X				X				X	
11	Perfiles con efectos estocásticos, degradación y/o inhibición				X				X				X	
12	Tipos de perfiles genéticos mezcla				X				X				X	

Observaciones:

Opinión de aplicabilidad: **Aplicable [X]** **Aplicable después de corregir []** **No aplicable []**

Apellidos y nombres del juez validador Dr. Carlos David, ~~Nevra~~ Rivera

DNI: 42528324

Especialidad del validador: Dr. en Biología Molecular y Biotecnología

¹Pertinencia: El ítem corresponde al concepto teórico formulado.

²Relevancia: El ítem es apropiado para representar al componente o dimensión específica del constructo

³Claridad: Se entiende sin dificultad alguna el enunciado del ítem, es conciso, exacto y directo

Nota: Suficiencia, se dice suficiencia cuando los ítems planteados son | suficientes para medir la dimensión

MD: Muy en Desacuerdo

D: Desacuerdo

A: Acuerdo

MA: Muy de acuerdo

Lima 16 de diciembre del 2021

Certificado de validez experto 1: variable 2

Certificado de validez de contenido del instrumento: Análisis De Perfiles Genéticos Mezcla Y Su Aplicación En Evidencias Forenses De Violencia Sexual De Mujeres Peruanas En UNBIMOG 2019-2020

N°	DIMENSIONES / Items Variable 2: Evidencias forenses de violencia sexual	Pertinencia ¹				Relevancia ²				Claridad ³				Suficiencia ⁴
		M	D	A	MA	M	D	A	MA	M	D	A	MA	
DIMENSIÓN 3: EVIDENCIAS FORENSES DE CASOS DE VIOLACIÓN SEXUAL DE UN SOLO AGRESOR														
13	Ubicación				X				X				X	
14	Edad Agravada (s)				X				X				X	
15	Edad Agresor (es)				X				X				X	
16	Tipo de indicio biológico				X				X				X	
17	Soporte que contiene la muestra				X				X				X	
18	Preservación de las muestras				X				X				X	
19	Muestra de referencia de la agravada				X				X				X	
20	Cuantificación de ADN autosómico (gg)				X				X				X	
21	Cuantificación de Cromosoma Y (gg)				X				X				X	
22	Muestras críticas del componente minoritario				X				X				X	
DIMENSIÓN 4: EVIDENCIAS FORENSES DE CASOS DE VIOLACIÓN SEXUAL MÚLTIPLES AGRESORES														
23	Parentesco biológico				X				X				X	
24	Comparación con muestras de referencia				X				X				X	
25	Cálculo del índice de Verosimilitud				X				X				X	

Observaciones:

Opinión de aplicabilidad: Aplicable [] Aplicable después de corregir [] No aplicable []

Apellidos y nombres del juez validador Dr. Carlos David, ~~Urrutia~~ Neyra Rivera DNI: 42528324

Especialidad del validador: Dr. En Biología Molecular y Biotecnología

¹Pertinencia: El ítem corresponde al concepto teórico formulado.

²Relevancia: El ítem es apropiado para representar al componente o dimensión específica del constructo

³Claridad: Se entiende sin dificultad alguna el enunciado del ítem, es conciso, exacto y directo

Nota: Suficiencia, se dice suficiencia cuando los ítems planteados son suficientes para medir la dimensión

MD: Muy en Desacuerdo

D: Desacuerdo

A: Acuerdo

MA: Muy de acuerdo

Lima 16 de diciembre del 2021

Certificado de validez experto 2: variable 1

Certificado de validez de contenido del instrumento: Análisis De Perfiles Genéticos Mezcla y su Aplicación En Evidencias Forenses De Violencia Sexual De Mujeres Peruanas En UNBIMOG 2019-2020

N°	DIMENSIONES / ítems Variable 1: Perfiles genéticos mezcla	Pertinencia ¹				Relevancia ²				Claridad ³				Sugerencias
		M	D	A	MA	M	D	A	MA	M	D	A	MA	
DIMENSIÓN 1: UMBRALES GENERALES DE PERFILES GENETICOS														
1	Umbral Analítico (UA)				X				X			X		Debe ser mayor/igual que 50 y/o menor que 50
2	Umbral Estocástico (UE)				X				X			X		Igual sugerencia que punto 1
3	Umbral Stutter (US)				X				X			X		Igual sugerencia que punto 1
4	Umbral de desbalance de Heterocigotos (Hb)				X				X			X		Igual sugerencia que punto 1
5	Proporción de contribuyentes				X				X				X	
6	Contribuyentes principales y secundarios				X				X				X	
DIMENSIÓN 2: INTERPRETACIÓN DE PERFILES GENETICOS MEZCLA														
7	Extra-bandas: stutter, anomalías cromosómicas, 'N' bandas				X				X				X	
8	Artefactos: Pull ups, dropout, dye, spikes, blob, OL				X				X				X	
9	Evaluación de contaminación: controles positivo y negativo				X				X				X	
10	Combinación genotípica de los componentes de la mezcla				X				X				X	
11	Perfiles con efectos estocásticos, degradación y/o inhibición				X				X				X	
12	Tipos de perfiles genéticos mezcla				X				X				X	

Observaciones:

Opinión de aplicabilidad: Aplicable [**X**] Aplicable después de corregir [] No aplicable []

Apellidos y nombres del juez validador Dra. PADILLA CHAVEZ, Mónica

DNI: 29304707

Especialidad del validador: Mg. En Ciencias / Mg. En Biología Sanitaria / Dra. En Biología Molecular y Biotecnología

Lima 04 de agosto del 2022

¹Pertinencia: El ítem corresponde al concepto teórico formulado.

²Relevancia: El ítem es apropiado para representar al componente o dimensión específica del constructo

³Claridad: Se entiende sin dificultad alguna el enunciado del ítem, es conciso, exacto y directo

Nota: Suficiencia, se dice suficiencia cuando los ítems planteados son suficientes para medir la dimensión

MD: Muy en Desacuerdo

D: Desacuerdo

A: Acuerdo

MA: Muy de acuerdo



PADILLA CHAVEZ, Mónica

Dra. En Biología Molecular y Biotecnología

Certificado de validez experto 2: variable 2

Certificado de validez de contenido del instrumento: Análisis De Perfiles Genéticos Mezcla Y Su Aplicación En Evidencias Forenses De Violencia Sexual De Mujeres Peruanas En UNBIMOG 2019-2020

N°	DIMENSIONES / Items												Sugerencias												
	Variable 2: Evidencias forenses de violencia sexual																								
													Pertinencia ¹	Relevancia ²	Claridad ³										
													M	D	A	MA	M	D	A	MA	M	D	A	MA	
DIMENSIÓN 3: EVIDENCIAS FORENSES DE CASOS DE VIOLACIÓN SEXUAL DE UN SOLO AGRESOR																									
13	Ubicación				X					X								X							
14	Edad Agraviada (s)				X					X								X							
15	Edad Agresor (es)				X					X								X							
16	Tipo de indicio biológico				X					X								X							
17	Soporte que contiene la muestra				X					X								X							
18	Preservación de las muestras				X					X								X							
19	Muestra de referencia de la agraviada				X					X								X							
20	Cuantificación de ADN autosómico (ng)				X					X								X							
21	Cuantificación de Cromosoma Y (ng)				X					X								X							
22	Muestras críticas del componente minoritario				X					X								X							
DIMENSIÓN 4: EVIDENCIAS FORENSES DE CASOS DE VIOLACIÓN SEXUAL MÚLTIPLES AGRESORES																									
23	Parentesco biológico				X					X								X							
24	Comparación con muestras de referencia				X					X								X							
25	Cálculo del índice de Verosimilitud				X					X								X							

Observaciones:

Opinión de aplicabilidad: Aplicable [] Aplicable después de corregir [] No aplicable []

Apellidos y nombres del juez validador Dra. PADILLA CHAVEZ, Mónica

DNI: 29304707

Especialidad del validador: Mg. En Ciencias / Mg. En Biología Sanitaria / Dra. En Biología Molecular y Biotecnología

¹Pertinencia: El ítem corresponde al concepto teórico formulado.

²Relevancia: El ítem es apropiado para representar al componente o dimensión específica del constructo

³Claridad: Se entiende sin dificultad alguna el enunciado del ítem, es conciso, exacto y directo

Nota: Suficiencia, se dice suficiencia cuando los ítems planteados son suficientes para medir la dimensión

MD: Muy en Desacuerdo

D: Desacuerdo

A: Acuerdo

MA: Muy de acuerdo

Lima 04 de agosto del 2022



PADILLA CHAVEZ, Mónica
Dra. En Biología Molecular y Biotecnología

Certificado de validez experto 3: variable 1

Certificado de validez de contenido del instrumento: Análisis De Perfiles Genéticos Mezcla y su Aplicación En Evidencias Forenses De Violencia Sexual De Mujeres Peruanas En UNBIMOG 2019-2020

N°	DIMENSIONES / ítems				Pertinencia ¹	Relevancia ²	Claridad ³	Sugerencias	
	Variable 1: Perfiles genéticos mezcla								
DIMENSIÓN 1: UMBRALES GENERALES DE PERFILES GENETICOS									
		M	D	A	MA	M	D	A	MA
1	Umbral Analítico (UA)				X			X	
2	Umbral Estocástico (UE)				X			X	
3	Umbral Stutter (US)				X			X	
4	Umbral de desbalance de Heterocigotos (Hb)				X			X	
5	Proporción de contribuyentes				X			X	
6	Contribuyentes principales y secundarios				X			X	
DIMENSIÓN 2: INTERPRETACIÓN DE PERFILES GENETICOS MEZCLA									
7	Extrabandas: Banda stutter , anomalías cromosómicas, 'N' bandas				X			X	
8	Artefactos: Pull ups, drooping , spikes, dye blob				X			X	
9	Evaluación de contaminación: controles positivo y negativo				X			X	
10	Combinación genotípica de los componentes de la mezcla				X			X	
11	Perfiles con efectos estocásticos, degradación y/o inhibición				X			X	
12	Tipos de perfiles genéticos mezcla				X			X	

Observaciones:

Opinión de aplicabilidad: **Aplicable [X]** **Aplicable después de corregir []** **No aplicable []**

Apellidos y nombres del juez validador Dra. MARIA TERESA RAFAELA MEZA ARAGON

DNI: 29603841

Especialidad del validador: Mg. En Ciencias / Dra. En Biología Molecular y Biotecnología

Lima 03 de agosto del 2022

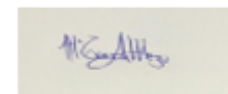
¹Pertinencia: El ítem corresponde al concepto teórico formulado.

²Relevancia: El ítem es apropiado para representar al componente o dimensión específica del constructo

³Claridad: Se entiende sin dificultad alguna el enunciado del ítem, es conciso, exacto y directo

Nota: Suficiencia, se dice suficiencia cuando los ítems planteados son suficientes para medir la dimensión

MD: Muy en Desacuerdo
D: Desacuerdo
A: Acuerdo
MA: Muy de acuerdo



MEZA ARAGON, MARIA TERESA R.
Dra. En Biología Molecular y Biotecnología

Acti
Ve a l

Certificado de validez experto 3: variable 2

Certificado de validez de contenido del instrumento: Análisis De Perfiles Genéticos Mezcla Y Su Aplicación En Evidencias Forenses De Violencia Sexual De Mujeres Peruanas En UNBIMOG 2019-2020

N°	DIMENSIONES / Items	Pertinencia ¹				Relevancia ²				Claridad ³				Sugerencias
		M	D	A	MA	M	D	A	MA	M	D	A	MA	
DIMENSIÓN 3: EVIDENCIAS FORENSES DE CASOS DE VIOLACIÓN SEXUAL DE UN SOLO AGRESOR														
13	Ubicación			X			X			X				
14	Edad Agravada (s)			X			X			X				
15	Edad Agresor (es)			X			X			X				
16	Tipo de indicio biológico			X			X			X				
17	Soporte que contiene la muestra			X			X			X				
18	Preservación de las muestras			X			X			X				
19	Muestra de referencia de la agravada			X			X			X				
20	Cuantificación de ADN autosómico (ng)			X			X			X				
21	Cuantificación de Cromosoma Y (ng)			X			X			X				
22	Muestras críticas del componente minoritario			X			X			X				
DIMENSIÓN 4: EVIDENCIAS FORENSES DE CASOS DE VIOLACIÓN SEXUAL MULTIPLES AGRESORES														
23	Parentesco biológico			X			X			X				
24	Comparación con muestras de referencia			X			X			X				
25	Cálculo del índice de Verosimilitud			X			X			X				

Observaciones:

Opinión de aplicabilidad: **Aplicable [X ✓]** **Aplicable después de corregir []** **No aplicable []**

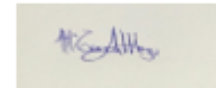
Apellidos y nombres del juez validador **Dra. MARIA TERESA RAFAELA MEZA ARAGON** **DNI: 29603841**

Especialidad del validador: **Mg. En Ciencias / Dra. En Biología Molecular y Biotecnología**

¹Pertinencia: El ítem corresponde al concepto teórico formulado.
²Relevancia: El ítem es apropiado para representar al componente o dimensión específica del constructo
³Claridad: Se entiende sin dificultad alguna el enunciado del ítem, es conciso, exacto y directo

MD: Muy en Desacuerdo
D: Desacuerdo
A: Acuerdo
MA: Muy de acuerdo

Lima 03 de agosto del 2022



Nota: Suficiencia, se dice suficiencia cuando los ítems planteados son suficientes para medir la dimensión

MEZA ARAGON, MARIA TERESA R
Dra. En Biología Molecular y Biotecnología

Certificado de validez experto 4: variable 1

Certificado de validez de contenido del instrumento: Análisis De Perfiles Genéticos Mezcla y su Aplicación En Evidencias Forenses De Violencia Sexual De Mujeres Peruanas En UNBIMOG 2019-2020

N°	DIMENSIONES / items Variable 1: Perfiles genéticos mezcla	Pertinencia ¹				Relevancia ²				Claridad ³				Sugerencias
		M	D	A	MA	M	D	A	MA	M	D	A	MA	
DIMENSIÓN 1: UMBRALES GENERALES DE PERFILES GENETICOS														
1	Umbral Analítico (UA)				X				X				X	
2	Umbral Estocástico (UE)				X				X				X	
3	Umbral Sttuter (US)				X				X				X	
4	Umbral de desbalance de Heterocigotos (Hb)				X				X				X	
5	Proporción de contribuyentes				X				X				X	
6	Contribuyentes principales y secundarios				X				X				X	
DIMENSIÓN 2: INTERPRETACIÓN DE PERFILES GENETICOS MEZCLA														
7	Extrabandas: sttuter, trialelos, 'N' bandas				X				X				X	
8	Artefactos: Pull ups, droping, dye-blob, spikes				X				X				X	
9	Evaluación de contaminación: Controles positivo y negativo				X				X				X	
10	Combinación genotípica de los componentes de la mezcla				X				X				X	
11	Perfiles con efectos estocásticos, degradación y/o inhibición				X				X				X	
12	Tipos de perfiles genéticos mezcla				X				X				X	

Observaciones:

Opinión de aplicabilidad: **Aplicable [X]** **Aplicable después de corregir []** **No aplicable []**

Apellidos y nombres del juez validador Mg. DELGADO RAMOS Edgardo

DNI: 16758936

Especialidad del validador: Genetista

¹**Pertinencia:** El ítem corresponde al concepto teórico formulado.

²**Relevancia:** El ítem es apropiado para representar al componente o dimensión específica del constructo

³**Claridad:** Se entiende sin dificultad alguna el enunciado del ítem, es conciso, exacto y directo

Nota: Suficiencia, se dice suficiencia cuando los ítems planteados son suficientes para medir la dimensión

MD: Muy en Desacuerdo

D: Desacuerdo

A: Acuerdo

MA: Muy de acuerdo

Lima 04 de agosto del 2022



DELGADO RAMOS Edgardo

Mg Genética

Certificado de validez experto 4: variable 2

Certificado de validez de contenido del instrumento: Análisis De Perfiles Genéticos Mezcla y su Aplicación En Evidencias Forenses De Violencia Sexual De Mujeres Peruanas En UNBIMOG 2019-2020

N°	DIMENSIONES / ítems				Pertinencia ¹				Relevancia ²				Claridad ³				Sugerencias
	Variable 1: Perfiles genéticos mezcla					M	D	A	MA	M	D	A	MA	M	D	A	
DIMENSION 1: UMBRALES GENERALES DE PERFILES GENETICOS																	
1	Umbral Analítico (UA)				X				X				X				X
2	Umbral Estocástico (UE)				X				X				X				X
3	Umbral Stutter (US)				X				X				X				X
4	Umbral de desbalance de Heterocigotos (Hb)				X				X				X				X
5	Proporción de contribuyentes				X				X				X				X
6	Contribuyentes principales y secundarios				X				X				X				X
DIMENSION 2: INTERPRETACIÓN DE PERFILES GENETICOS MEZCLA																	
7	Extrabandas ; Bandas stutter , anomalías cromosómicas, 'N' bandas				X				X				X				X
8	Artefactos ; Pull ups, drooping , dye, spikes, blob, OL				X				X				X				X
9	Controles positivo y negativo				X				X				X				X
10	Combinación genotípica de los componentes de la mezcla				X				X				X				X
11	Perfiles con efectos estocásticos, degradación y/o inhibición				X				X				X				X
12	Tipos de perfiles genéticos mezcla				X				X				X				X

Observaciones:

Opinión de aplicabilidad: Aplicable [X] Aplicable después de corregir [] No aplicable []

Apellidos y nombres del juez validador: Mg. GONZALES CALLIRI, Carmen Rosa DNI:... 29605261

Especialidad del validador: Ciencias: Forenses y Criminalística, con mención en Peritación Criminalística

¹Pertinencia: El ítem corresponde al concepto teórico formulado.
²Relevancia: El ítem es apropiado para representar al componente o dimensión específica del constructo
³Claridad: Se entiende sin dificultad alguna el enunciado del ítem, es conciso, exacto y directo

MD: Muy en Desacuerdo
D: Desacuerdo
A: Acuerdo
MA: Muy de acuerdo

Lima 02 de Agosto del 2022

Nota: Suficiencia, se dice suficiencia cuando los ítems planteados son suficientes para medir la dimensión

Certificado de validez experto 5: variable 2

Certificado de validez de contenido del instrumento: Análisis De Perfiles Genéticos Mezcla Y Su Aplicación En Evidencias Forenses De Violencia Sexual De Mujeres Peruanas En UNBIMOG 2019-2020

Nº	DIMENSIONES / Items Variable 2: Evidencias forenses de violencia sexual	Pertinencia ¹				Relevancia ²				Claridad ³				Sugerencias
		M	D	A	MA	M	D	A	MA	M	D	A	MA	
DIMENSION 3: EVIDENCIAS FORENSES DE CASOS DE VIOLACION SEXUAL DE UN SOLO AGRESOR														
13	Ubicación				X				X				X	
14	Edad Agraviada (s)				X				X				X	
15	Edad Agresor (es)				X				X				X	
16	Tipo de indicio biológico				X				X				X	
17	Soporte que contiene la muestra				X				X				X	
18	Preservación de las muestras				X				X				X	
19	Muestra de referencia de la agraviada				X				X				X	
20	Cuantificación de ADN autosómico (OG)				X				X				X	
21	Cuantificación de Cromosoma Y (OG)				X				X				X	
22	Muestras críticas del componente minoritario				X				X				X	
DIMENSION 4: EVIDENCIAS FORENSES DE CASOS DE VIOLACION SEXUAL MULTIPLES AGRESORES														
23	Parentesco biológico				X				X				X	
24	Comparación con muestras de referencia				X				X				X	
25	Cálculo del índice de Verosimilitud				X				X				X	

Observaciones:

Opinión de aplicabilidad: **Aplicable [X]** **Aplicable después de corregir []** **No aplicable []**

Apellidos y nombres del juez validador Mg. GONZALES CALLIRI, Carmen Rosa DNI: 29605261

Especialidad del validador: Genetista

¹Pertinencia: El ítem corresponde al concepto teórico formulado.
²Relevancia: El ítem es apropiado para representar al componente o dimensión específica del constructo
³Claridad: Se entiende sin dificultad alguna el enunciado del ítem, es conciso, exacto y directo

MD: Muy en Desacuerdo
 D: Desacuerdo
 A: Acuerdo
 MA: Muy de acuerdo

Lima 02 de agosto del 2022



Nota: Suficiencia, se dice suficiencia cuando los ítems planteados son suficientes para medir la dimensión

Anexo 5. Confiabilidad del instrumento

```

COMPUTE suma=Umbral_Analítico + Umbral_Estocástico + Umbral_Stutter +
Umbral_desbalance_heterocigotos + Proporción_Contribuyentes +
Contribuyentes_principales_secundarios + Extrabandas + Artefactos +
Evaluación_contaminación + Combinacion_Genotipica +
Perfil_Estocastico_Inhibición_Degradación +
    Tipo_Mezcla + Ubicación + Edad_V + Edad_S + Indicio + Soporte +
Preservación + Referencia_Agraviada
    + Cuantificación_ADN_Autosomico + Cuantificación_Y + Muestras Criticas +
Parentesco + N°_Homologación + Verosimilitud.
EXECUTE.
CORRELATIONS
    / Umbral_Analítico + Umbral_Estocástico + Umbral_Stutter +
Umbral_desbalance_heterocigotos + Proporción_Contribuyentes +
Contribuyentes_principales_secundarios + Extrabandas + Artefactos +
Evaluación_contaminación + Combinacion_Genotipica +
Perfil_Estocastico_Inhibición_Degradación +
    Tipo_Mezcla + Ubicación + Edad_V + Edad_S + Indicio + Soporte +
Preservación + Referencia_Agraviada
    + Cuantificación_ADN_Autosomico + Cuantificación_Y + Muestras Criticas +
Parentesco + N°_Homologación + Verosimilitud.
suma
    /PRINT=TWOTAIL NOSIG
    /MISSING=PAIRWISE.

```

Fiabilidad

Escala: V1+V2

Resumen de procesamiento de casos

		N	%
Casos	Válido	15	100,0
	Excluido ^a	0	,0
	Total	15	100,0

a. La eliminación por lista se basa en todas las variables del procedimiento.

Estadísticas de fiabilidad

Alfa de Cronbach	N de elementos
,823	25

El instrumento es altamente confiable.

Fuente SPSS versión 26.

Anexo 6. Oficio de aprobación del Instituto de Medicina Legal Y ciencias Forenses para la recolección de datos



MINISTERIO PÚBLICO
FISCALÍA DE LA NACIÓN

Decenio de la Igualdad de oportunidades para mujeres y hombres
Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional
OFICINA DE GARANTÍA DE CALIDAD

Lima, 27 de Mayo del 2022



Firma
Digital

Firmado digitalmente por SCOTILO
DIRECCIÓN GENERAL FISCALÍA DE LA NACIÓN
OFICINA DE GARANTÍA DE CALIDAD
Módulo: S301 el autor del documento
Fecha: 27.05.2022 16:54:49 -05:00

OFICIO N° 000141-2022-MP-FN-OFGACAL

Señora Bióloga
MARIA ESTILITA BERMEJO VALLADOLID
Unidad de Biología Molecular y Genética

Presente.-

Asunto : Aprobación del Proyecto de Investigación Titulado: "ANÁLISIS DE PERFILES GENÉTICOS MEZCLA Y SU APLICACIÓN EN EVIDENCIAS FORENSES DE VIOLENCIA SEXUAL DE MUJERES PERUANAS EN UNBIMOG 2019-2020" -

Referencia : **INFORME N° 000084-2019-MP-FN-UNBIMOG**
PROVEIDO N° 000911-2022-MP-FN-OFGACAL (22MAY2022)

Expediente : OFGACA20220000100

Tengo el agrado de dirigirme a usted, en mérito al documento de la referencia, por medio del cual solicitara autorización para el desarrollo de la Tesis de Post grado, cuyo tema de investigación tiene por título: "ANÁLISIS DE PERFILES GENÉTICOS MEZCLA Y SU APLICACIÓN EN EVIDENCIAS FORENSES DE VIOLENCIA SEXUAL DE MUJERES PERUANAS EN UNBIMOG 2019-2020".

Al respecto, le hacemos llegar el **INFORME N° 004-2022-MP-FN-OFGACAL-CEI**, suscrito por el Dr. José Luis Sabaduche Murgueytio, en representación del Comité de Ética en Investigación del Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses, mediante el cual le otorga el visto bueno desde el punto de vista ÉTICO EN LA INVESTIGACIÓN, sólo se le exhorta a que como investigadora cumpla con la observancia de la Ley N° 29733 "Ley de Protección de Datos Personales".

Asimismo, también le hacemos llegar el **INFORME TÉCNICO N° 023-2022 del Comité de Investigación del IMLCF**, suscrito por el Dr. Cleyber Navarro Sandoval en representación del Comité de Investigación del IMLCF, mediante el cual informa con relación a su proyecto, que realizada la revisión de la documentación remitida el planteamiento metodológico de la investigación es adecuado, por lo que, el resultado de la revisión es aprobatorio.

En tal sentido, y visto los informes emitidos por ambos Comités, se le autoriza a realizar su Proyecto de Investigación en el Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses específicamente en la Unidad de Biología Molecular y Genética - UNBIMOG, solo deberá considerar las recomendaciones dadas al respecto, en cuanto al manejo de la información.

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

Atentamente,

Anexo 7. Carta de aprobación del comité de ética



COMITÉ INSTITUCIONAL DE ÉTICA PARA LA INVESTIGACIÓN

Lima, 08 de febrero de 2022

Investigador(a):
María Estilita Bermejo Valladolid
 Exp. N° 1483-2022

Cordiales saludos, en conformidad con el proyecto presentado al Comité Institucional de Ética para la investigación de la Universidad Privada Norbert Wiener, titulado: "ANÁLISIS DE PERFILES GENÉTICOS MEZCLA Y SU APLICACIÓN EN EVIDENCIAS FORENSES DE VIOLENCIA SEXUAL DE MUJERES PERUANAS EN UNBIMOG 2019-2020", el cual tiene como investigador principal a **María Estilita Bermejo Valladolid**.

Al respecto se informa lo siguiente:

El Comité Institucional de Ética para la investigación de la Universidad Privada Norbert Wiener, en sesión virtual ha acordado la **APROBACIÓN DEL PROYECTO** de investigación, para lo cual se indica lo siguiente:

1. La vigencia de esta aprobación es de un año a partir de la emisión de este documento.
2. Toda enmienda o adenda que requiera el Protocolo debe ser presentado al CIEI y no podrá implementarla sin la debida aprobación.
3. Debe presentar 01 informe de avance cumplidos los 6 meses y el informe final debe ser presentado al año de aprobación.
4. Los trámites para su renovación deberán iniciarse 30 días antes de su vencimiento juntamente con el informe de avance correspondiente.

Sin otro particular, quedo de Ud.,

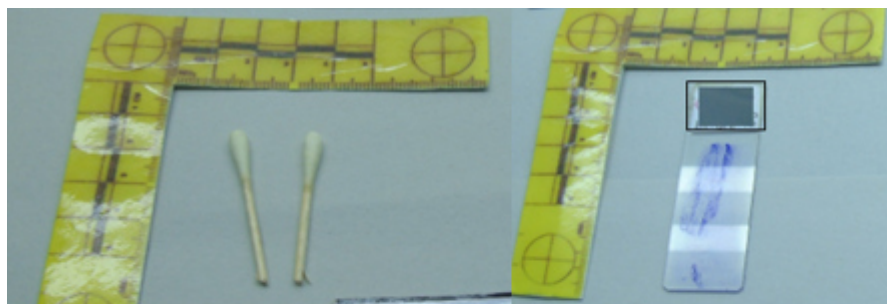
Atentamente



Yenny Marisol Bellido Fuentes
 Presidenta del CIEI- UPNW

Anexo 8. Fotos del estudio

Imágenes de evidencias de violencia sexual.

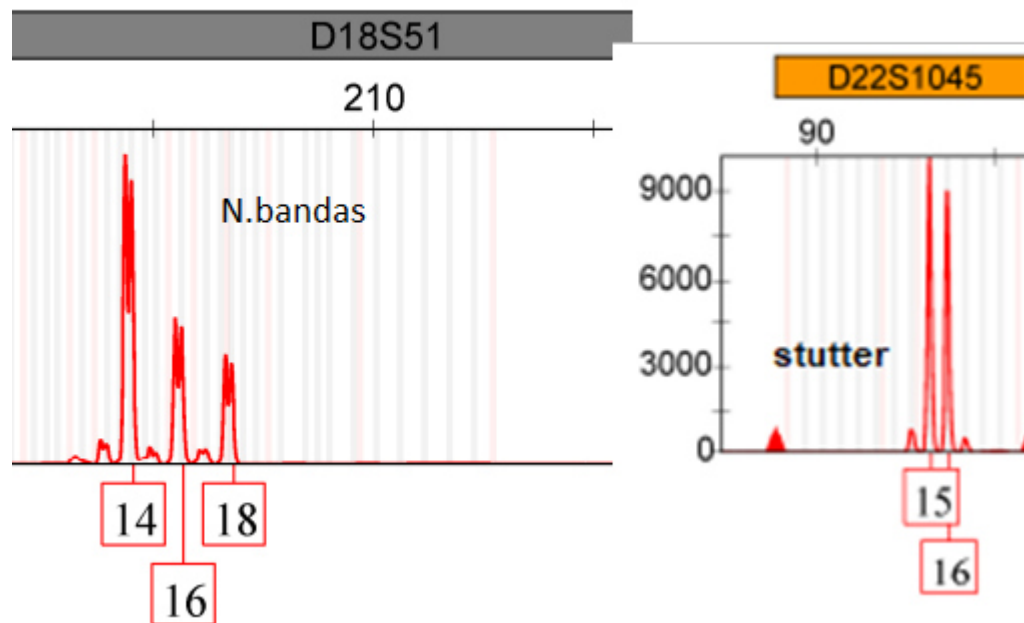


**Evidencias
forenses de
violencia
sexual**

Imágene:

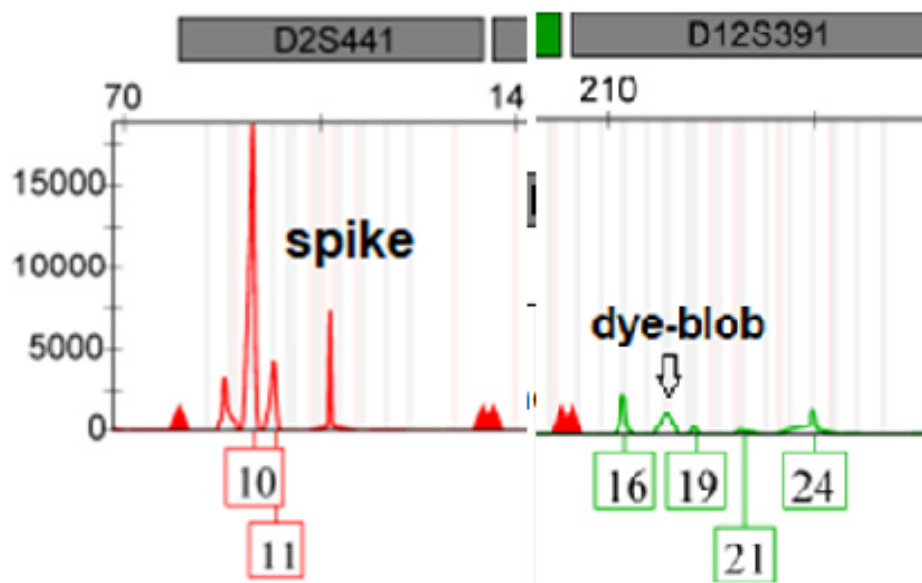


EXTRABANDAS



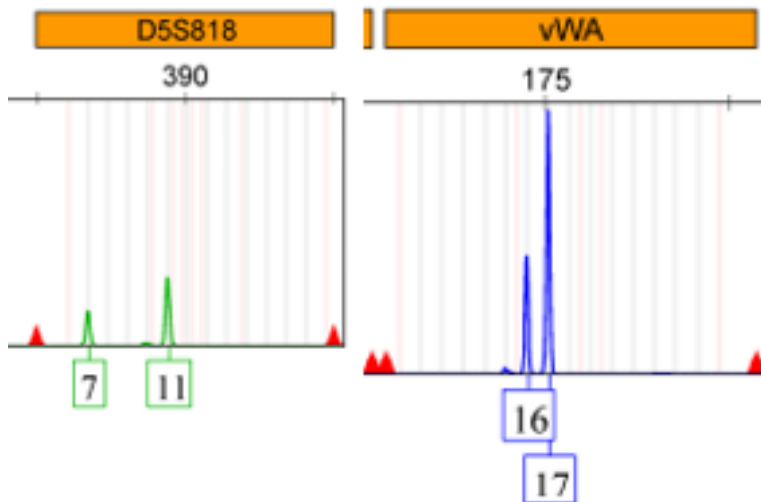
Imágenes de artefactos genéticos

ARTEFACTOS

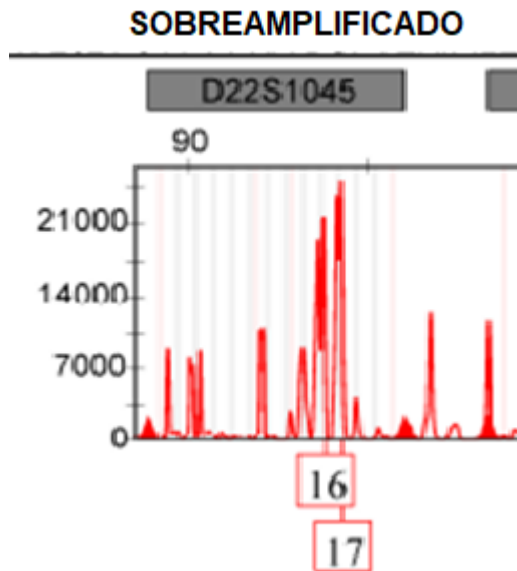


Desbalance de heterocigotos

DESBALANCE DE HETEROCIGOTOS



Sobreamplificado de ADN



Contribuyentes principales y secundarios

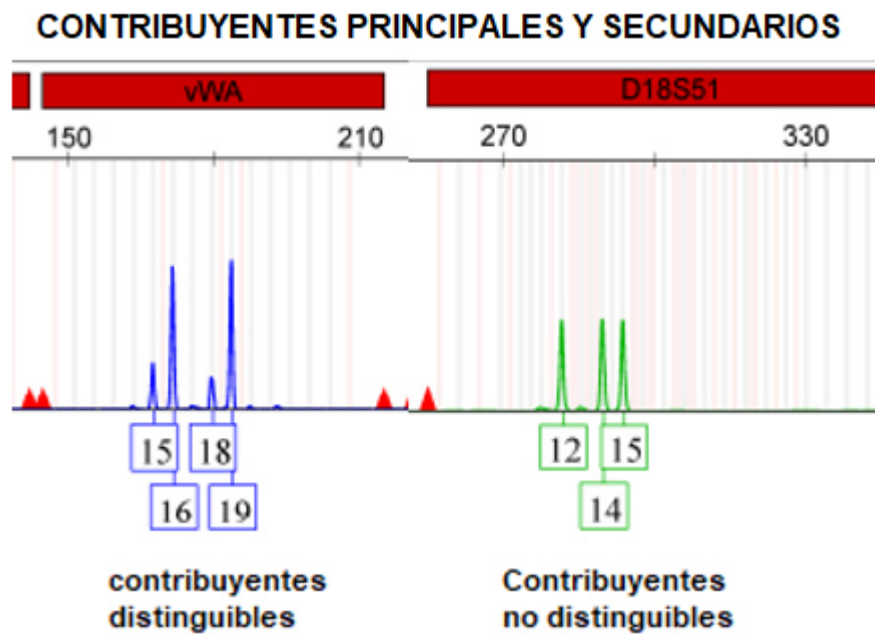


Figura 22. Perfil genético degradado y/o inhibido

Perfil con degradación y/o inhibición

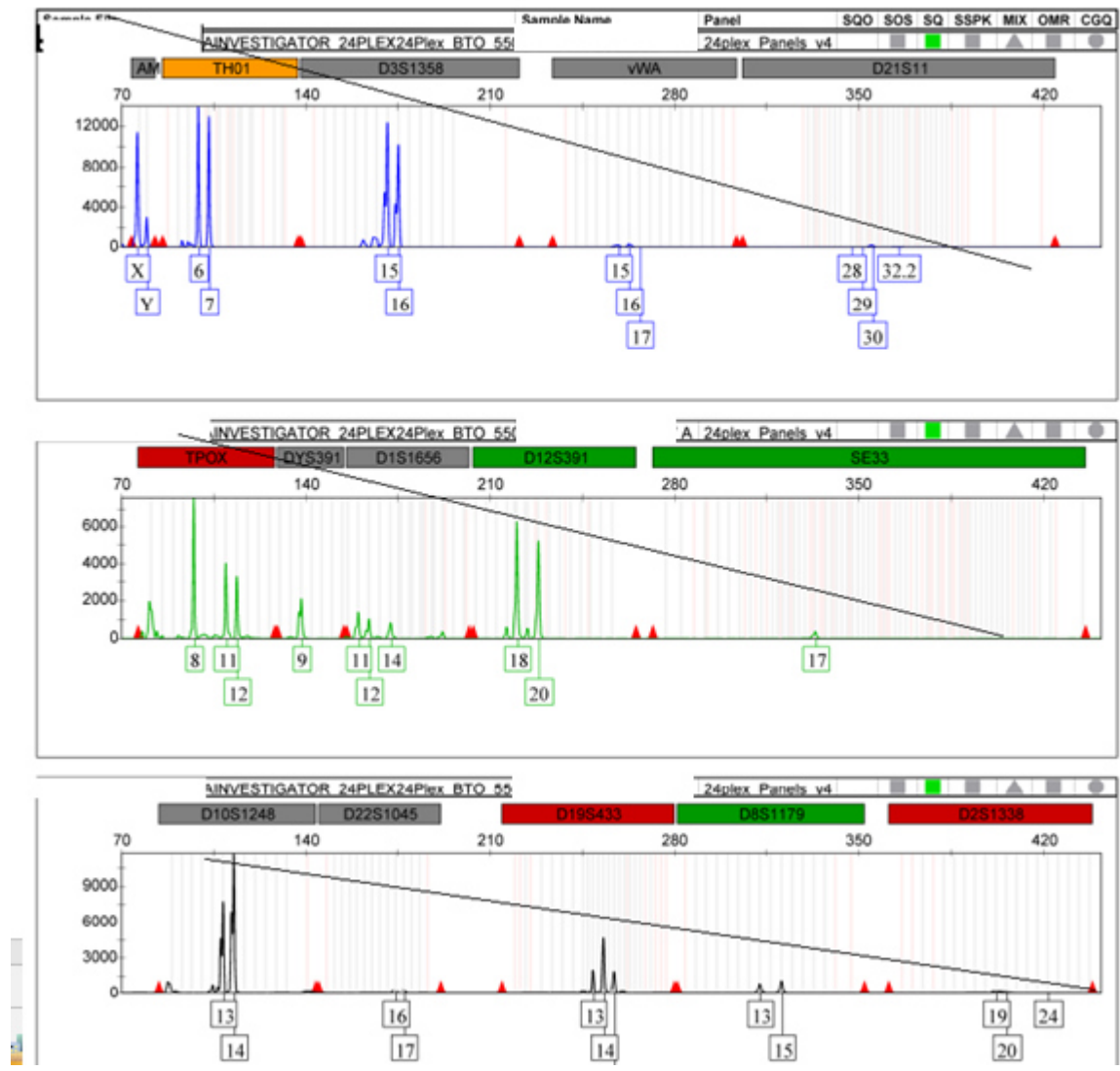


Figura 23. Perfil genético con efectos estocásticos

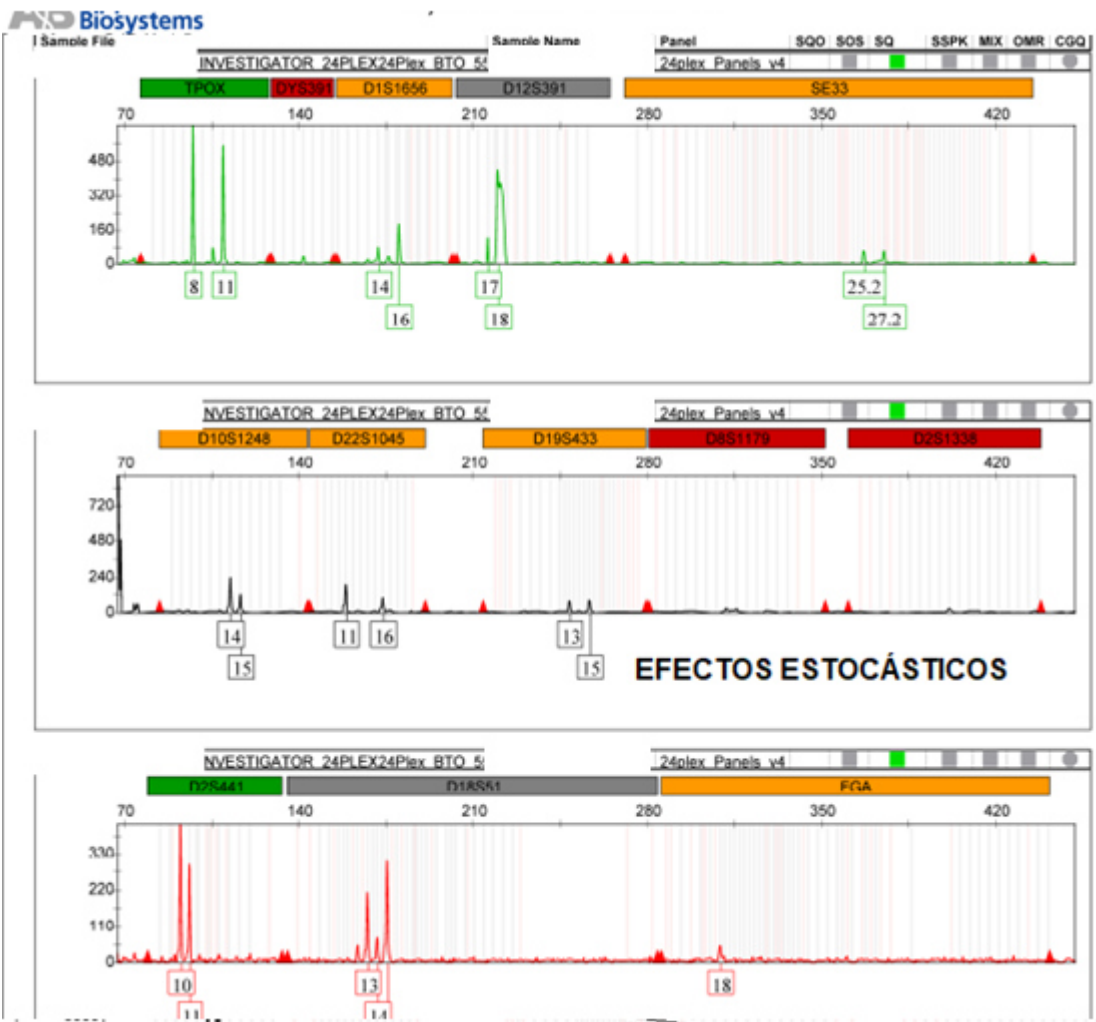
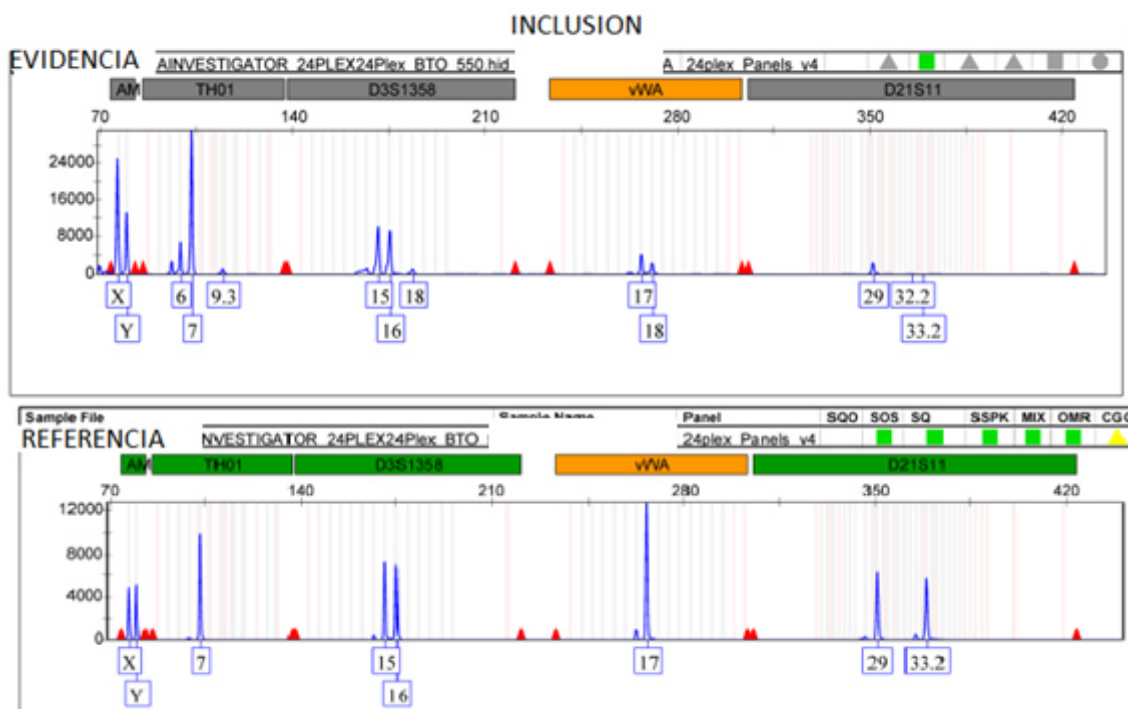


Figura 24. Ejemplo de inclusión



Resultados de inclusión con perfiles mezcla realizados mediante el programa LRmix
versión 2.1.3



LRmix Studio

version 2.1.3-CommunityEdition

Case Number: 2022-015

Analysis performed by: HP

Date and time of analysis: 2022/02/22 14:37:19

Trace Analysed: ADN **2022 4056**

Analysis 1 of 1

Prosecution Hypothesis

Profile	Dropout Probability
ADN-2022- 4056	0.05
1 Unknown	0.05

Defense Hypothesis

Profile	Dropout Probability
Unknown	0.05

Match Parameters

Probability of dropin: 0.05

Theta correction: 0.01

Allele Frequencies C:\Users\HP\Desktop\LRmixstudio-2.1.3-CommunityEdition-distribution\24plex_frequencies2.csv

Case Number: 2022- 4056

Analysis performed by: HP

Date and time of analysis: 2022/02/22 14:37:19

Trace Analysed: ADN-2022-

Results

Locus	Pr(E Hp)	Pr(E Hd)	LR
TH01	1.38601E-001	5.82365E-002	2.37997E000
D3S1358	3.81816E-001	1.34943E-001	2.82946E000
VWA	3.22764E-001	1.24389E-001	2.59479E000
D21S11	6.53697E-002	7.82898E-003	8.34971E000
TPOX	3.18419E-001	5.35192E-002	5.94962E000
D1S1656	9.59637E-002	8.26584E-003	1.16097E001
D12S391	9.90997E-002	1.85040E-003	5.35558E001
SE33	4.09085E-002	1.96938E-003	2.07723E001
D10S1248	3.87700E-001	1.37894E-001	2.81158E000
D22S1045	1.47518E-001	2.41127E-002	6.11786E000
D19S433	1.71646E-001	9.42700E-003	1.82079E001
D8S1179	3.39421E-002	8.39163E-004	4.04476E001
D2S1338	4.43813E-002	3.65719E-003	1.21353E001
D2S441	2.97220E-001	8.14846E-002	3.64756E000
D18S51	2.76896E-002	8.95291E-004	3.09281E001
FGA	1.70636E-002	7.81305E-003	2.18399E000
D16S539	6.48118E-003	2.30206E-003	2.81538E000
CSF1PO	3.61778E-001	2.45919E-001	1.47113E000
D13S317	1.49787E-002	2.71103E-003	5.52510E000
D5S818	3.69067E-003	4.89659E-003	7.53723E-001
D7S820	1.63353E-001	2.25650E-002	7.23920E000
Overall Likelihood Ratio			5.30198E016