

Utilización de azul de toluidina durante el examen médico legal sexológico forense, en mujeres víctimas de violencia sexual

Luis G. Guaico Pazmiño¹, Washington Paz Cevallos,² Luis Cisneros Yepez²

¹ Departamento médico legal, Fiscalía General del Estado Ecuatoriano, Quito, Ecuador.

² Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador.

Rev Fac Cien Med (Quito). 2015, 40 (1): 32-36

Resumen

Contexto: muchas víctimas por violencia sexual no tienen suficientes signos al examen Médico legal sexológico forense, que sirvan como prueba y sustenten la teoría del caso en una audiencia. En la década de los ochenta Lauber y Souma, desarrollaron una técnica simple de tinción utilizando azul de toluidina, la cual ayuda a detectar laceraciones en el área genital. **Objetivo:** Validar la técnica simple de tinción con azul de toluidina para evidenciar más objetivamente las lesiones genitales que se producen durante una agresión en mujeres víctimas de violencia sexual que acuden a la Fiscalía General del Estado Ecuatoriano. **Diseño:** Estudio observacional descriptivo y transversal. **Lugar y sujetos:** 81 muestras de mujeres víctimas de violencia sexual, quienes acudieron a poner su denuncia por presunta violación en las dependencias de Medicina legal tanto de la Fiscalía como de la Policía Judicial de Quito durante los años 2011 al 2014. **Mediciones principales:** Sensibilidad, especificidad, valor predictivo Positivo, valor predictivo negativo. **Resultados:** El examen visual detecta al 6,2 % de las laceraciones vulvo-perineales, pero estas son detectables con la tinción de toluidina en el 43% ($p < 0,05$). Con una prevalencia del 6,7% se encontró que la técnica de tinción simple con azul de toluidina tiene una sensibilidad del 100%, especificidad del 60,5%, valor predictivo positivo del 14,3%, valor predictivo negativo del 100%. **Conclusiones:** La coloración de azul de toluidina claramente aumenta la visualización de laceraciones genitales, que fueron cuestionables durante la inspección visual o no fueron vistas antes de la aplicación del colorante, se muestra como técnica a utilizar para screening en medicina forense.

Palabras clave: agresión sexual, muestras vaginales, laceraciones vulvares, azul de toluidina, ácido acético, lubricante, DNA, reacción en cadena de la polimerasa.

Abstract: In Ecuador, at least 61% of women have experienced some kind of gender violence. In 2007, the State's General Attorney Office reported more than 10.000 cases of sexual offense; only 300 cases were taken to trial and ended with a legal sentence. A lot of victims don't have enough injuries at the moment of the sexual forensic examination, so they must support and proof their case in the public audience. In the eighties Lauber and Souma developed a simple staining technique: toluidine blue. This technique helps to detect lacerations in the genital area so that genital lesions, product of sexual assault, can be easily observed. **Objective:** To validate the blue toluidina staining technique that allows observe more easily the genital lesions of women victim of sexual assault that come to the Ecuadorian General Attorney Office. **Design:** descriptive and transversal study. **Place and Subjects:** 81 samples of women victim of sexual assault, some of which presents or not lesions inside the vulva at the moment of visual inspection during the sexual forensic examination. And women who claimed violations at the Legal Medicine Office in the State's General Attorney Office and the Judicial Police in Quito, from 2011 to 2014. **Measurement Levels:** Sensibility, specificity, predictive positive value, predictive negative value. **Results:** The visual exam can detect 6,2% of vulvar - perineals lacerations. 43% ($p < 0.05$) are detectables with blue toluidina dye. With a 6.7% prevalence was found that toluidine blue technique has a sensibility of 100%, specificity of 60,5%, 14,3% predictive positive valor, 100% predictive negative value. **Conclusions:** The blue toluidina dye can improve the visualization of genital lacerations, which were questionable during the visual inspection or were not seen before the dye application. It can be a screening legal medicine technique.



Este artículo está bajo una licencia de Creative Commons de tipo Reconocimiento - No comercial - Sin obras derivadas 4.0 International Licence

Keywords: Sexual assault, vaginal swabs, vulvar lacerations, toluidine blue, acetic acid, lubricants, DNA, polymerase, chain reaction.

Correspondencia: Luis G. Guaico Pazmiño Email: www.luisgerardo@hotmail.com

Fiscalía General del Estado Ecuatoriano Quito, Ecuador

Recibido: 18/03/15 – Aceptado: 24/04/15

Introducción

En el Ecuador el 61% de las mujeres ha vivido algún tipo de violencia de género. Una de cada cuatro mujeres ha vivido violencia sexual, según sustenta la Primera Encuesta de Violencia de Género realizada por el Instituto Nacional de Estadística y Censos INEC 2014¹. Tan solo en 2007 en la Fiscalía General del Estado se registraron más de 10.000 denuncias de delitos sexuales, pero solo se llegó a audiencia de juzgamiento y sentencia en 300 casos².

La OMS define la violencia sexual como: "todo acto sexual, la tentativa de consumar un acto sexual, los comentarios o insinuaciones sexuales no deseados, o las acciones para comercializar o utilizar de cualquier otro modo la sexualidad de una persona mediante coacción por otra persona, independientemente de la relación de esta con la víctima, en cualquier ámbito, incluidos el hogar y el lugar de trabajo"³. El Código Orgánico Integral Penal ecuatoriano, (COIP) señala en su artículo 170 al abuso sexual; como la persona que en contra de la voluntad de otra, ejecute sobre ella o la obligue a ejecutar sobre si misma u otra persona, un acto de naturaleza sexual, sin que exista penetración o acceso carnal. En su artículo 171 violación; es el acceso carnal, con introducción total o parcial del miembro viril, por vía oral, vaginal o anal o la introducción, por vía vaginal o anal de objetos, dedos u órganos distintos al miembro viril⁴. De manera general el primer artículo se centra en aquellas lesiones ubicadas a nivel de vulva, región perineanal y la violación cuando las lesiones han sobrepasado la cara interna del himen o esfínter anal externo. Sobre esta base; desafortunadamente muchas víctimas por violencia sexual no tienen suficientes signos al examen Médico legal sexológico forense, que sirvan como prueba y sustenten la teoría del caso en una audiencia de ley.

Según Evert⁵ en un estudio de 117 mujeres víctimas de agresión sexual, solo el 19% tuvo laceraciones genitales, las cuales fueron usadas para corroborar en derecho que fueron víctimas de una agresión sexual. Hayman⁶ en otro estudio de 2190 mujeres víctimas de violación, solo el 20% de mujeres valoradas tuvo signos de trauma o evidencia que corrobore que una agresión sexual ocurrió. Bowyer⁷ y García⁸ sostienen que existe menos del 15 al 20% de incidencia de lesiones traumáticas genitales en víctimas

que alegan una agresión sexual. Las víctimas, estudios y estadísticas dan cuenta que deben implementarse nuevos procedimientos a efecto de determinar o descartar abuso sexual o violación. En la década de los ochenta Lauber y Souma⁹, para evidenciar más objetivamente las lesiones genitales que se producen durante una agresión sexual, desarrollaron una técnica simple de tinción utilizando azul de toluidina, la cual ayuda a detectar laceraciones en el área genital. El azul de toluidina es un colorante nuclear, fue usado por Richard¹⁰, para teñir carcinoma de cérvix in situ. Además se usa en la cavidad oral para delimitar áreas neoplásicas¹¹. Cancela¹² y Collins¹³ en 1966 lo describieron para ser usado en selección de biopsias en pacientes con enfermedad vulvar, tales como esclerosis liquenoide o carcinoma. A pesar de sus propiedades de tinción también es usado por vía intravenosa como antídoto en la metahemoglobinemia. Según McCaukey¹⁴ y Bays¹⁵, en 1992 evaluaron el test en víctimas de violencia sexual. Los resultados dependen de la presencia o ausencia de una población de células nucleadas en la mucosa expuesta. La mucosa vulvar normal no contiene núcleos que pudieran unirse al colorante. El uso de esta prueba para identificar laceraciones a nivel vulvar y perianal, "es también importante para evaluar si las lesiones son consecutivas a otras causas tales inflamatorias o enfermedades vulvovaginales benignas o malignas, un resultado positivo en este contexto demuestra un modelo más difuso y diseminado"^{16 17}.

Deben implementarse nuevos procedimientos a efecto de determinar o descartar abuso sexual o violación, en razón de lo cual se propone validar la técnica simple de tinción con azul de toluidina para evidenciar más objetivamente las lesiones genitales que se producen durante una agresión sexual en mujeres víctimas de violencia sexual que acuden a las dependencias de la Policía Judicial y la Fiscalía General del Estado Ecuatoriano.

Material y métodos

Este estudio se realizó en mujeres víctimas de violencia sexual, las cuales presentaban o no presentaban lesiones al examen sexológico forense a nivel de vulva durante la inspección visual quienes acudieron a poner su denuncia por presunta violación en las dependencias de Medicina legal tanto de la Fiscalía como de la Policía Judicial de

Quito durante los años 2011 al 2014, de las cuales se obtuvo el respectivo consentimiento informado en base a la declaración de Helsinki. Posterior a la toma de muestras de hisopado vaginal y previo a la manipulación, introducción de espéculo o los dedos del examinador, la solución acuosa de azul de toluidina al 1% es aplicada a nivel de la vulva en fosa navicular y cara externa de himen; usando un aplicador de algodón, un minuto después para que el colorante sea captado, el exceso de colorante es removido con lubricante, semejante al ácido acético al 1% en spray, o gel en una compresa de algodón. En el presente estudio se utilizó colorante de azul de toluidina al 1% de la marca Choma-Gesellschaft N., Germany), como lubricante gel K-Y de la marca Johnson y Johnson, (NJ, USA). La coloración es considerada positiva cuando hay áreas lineales con residuos de colorante con fondo azulado sobre la mucosa vulvar los cuales no fueron removidos. La coloración positiva es interpretada como áreas de erosión y laceración, puesto que estas áreas expuestas penetran hasta la dermis profunda en la cual se encuentran los núcleos celulares. Es un estudio de tipo observacional para lo cual se utilizó un diseño epidemiológico transversal, en 81 casos recolectados durante cuatro años en la Fiscalía general de la Nación, a quienes se les realizó el examen forense visual correspondiente y la posterior tinción. Los resultados se los procesó en una base de datos y posteriormente se utilizó el paquete estadístico Epidata versión 3.1, para la tabulación de datos y análisis correspondiente. Se utilizó porcentajes con su respectivo intervalo de confianza al 95%; se calculó sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo, razón de verosimilitud positiva y negativa. Como prueba de inferencia el estadístico de chi cuadrado de McNemar y se estableció como error de inferencia 5%.

Resultados

Se estudiaron 81 muestras tomadas de vulva durante el examen sexológico forense, para la identificación de laceraciones vulvo – perineales, a mujeres de entre 4 a 46 años, con una media de edad de $18,74 \pm 7,9$ años. La toma de la muestra se la realizó entre las 6 a 56 horas de ocurrido el hecho, con un promedio de $25,9 \pm 14,9$ horas; el 25% de las muestras fueron tomadas antes de las 12 horas, el 50% antes de las 24 horas y el 75% antes de las 36 horas. Nulíparas en el 74,1% (n = 60), multíparas en el 25,9% (n= 21). Se investigó

como antecedente el consumo de drogas, menstruación y penetración (Tabla 1).

Tabla 1: Frecuencia por antecedentes de la víctima (n = 81)

Antecedente	Frecuencia (n)	Porcentaje (%)
Consumo de drogas	27	33,3
Penetración	45	55,6
Penetración ½	29	35,8
Menstruación	10	12,3

Fuente y elaboración: autores

Tabla 2: Validación de la prueba con tinción de toluidina para detectar laceración vulvo - perineal

Prueba diagnóstica (Examen con tinción)	Prueba de referencia (Examen visual)		Total
	Con laceración	Sin laceración	
Positivo	5 (6,2%)	30 (37%)	35 (43%)
Negativo	0 (0%)	46 (56,8%)	46 (56,8%)
Total	5 (6,2%)	76 (93,8%)	81 (100%)

Fuente y elaboración: autores

El examen visual detecta al 6,2 % de las laceraciones vulvo – perineales, pero estas son detectables con la tinción de toluidina en el 43%(p < 0,05).

Tabla 3: Indicadores de la prueba con tinción de toluidina para detectar laceración vulvo - perineal

Indicadores		Valor	IC (95%)	
Sensibilidad (S)	(%)	100,0	90,0	100,0
Especificidad (E)	(%)	60,53	48,8	72,17
Índice de validez	(%)	62,96	51,8	74,1
Valor predictivo + (VPP)	(%)	14,29	1,26	27,31
Valor predictivo - (VPN)	(%)	100,0	98,9	100,0
Prevalencia	(%)	6,17	0,31	12,03
Índice de Youden		0,61	0,5	0,72
Razón de verosimilitud + (RVP)		2,53	1,92	3,35
Razón de verosimilitud - (RVN)			-	-

Fuente y elaboración: autores

La prueba de tinción con toluidina para detectar laceraciones vulvo-perineales clasifica correctamente a quienes la tienen en un 100% y a

quienes no la tienen en un 90%, lo que la convierte en excelente para discriminar este tipo de lesiones; al igual que el valor predictivo negativo del 100% indica que una prueba negativa es cien por ciento certera de que no existe lesión y convierte a la prueba perfecta para descartar lesiones, inclusive con los antecedentes de nuliparidad (S: 100%, E: 67,3%, VPP: 21,2%, VPN: 100%); consumo de drogas (S: 100%, E: 65,4%, VPP: 10,0%, VPN: 100%); y penetración (S: 100%, E: 38,1%, VPP: 10,3%, VPN: 100%).

Discusión

La coloración de azul de toluidina claramente aumenta la visualización de laceraciones genitales, que fueron cuestionables durante la inspección visual o no fueron vistas antes de la aplicación del colorante. Sin embargo actualmente existen limitaciones en la interpretación de los hallazgos positivos como prueba en casos de violencia sexual, puesto que pocos estudios valoran casos controles en diferente grupo de edad^{18 19}. Adicionalmente, existiría preocupación acerca de si la técnica de tinción afectaría las muestras de vulva y vagina levantadas para la tipificación de ADN ya que el lubricante como el colorante podría interferir en la misma. Aunque "se demostró que las células espermáticas y no espermáticas expuestas a estos reactivos son susceptibles de análisis utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para propósitos de identificación e identidad, es pertinente que más estudios con validez interna en nuestro medio sean realizados, puesto que los compuestos varían de un producto a otro"²⁰. Es importante enfatizar que la ausencia de laceraciones es común en víctimas de abuso sexual. Sin embargo, la presencia de las mismas no implica que hubo introducción vaginal del pene, dedos, cuerpo extraños entre otros pudieron haber sido introducidos. Más aun las laceraciones vulvares o perineales pudieron haber sido producidas durante la examinación manual o al colocar especulo vaginal²¹. Resaltando la importancia de

realizar la coloración del azul de toluidina antes de la examinación Médico legal. Puesto que los resultados de una coloración positiva pueden ser reputados en audiencia ante los magistrados, si la inserción del espejo vaginal o examinación manual fue realizada antes de la coloración.

La tinción en la actualidad en nuestro medio es de uso nulo a nivel forense en valoraciones por agresión sexual, el personal de Médicos legistas debería ser capacitado en base a la técnica y documentación de las lesiones; fiscales y jueces deberían ser instruidos en base a la interpretación de los resultados. Debiendo ser cautos teniendo siempre en cuenta que "aunque la técnica de tinción es una herramienta útil para determinar laceraciones a nivel de cara interna de labios mayores, labios menores, fosa navicular e himen en su borde de implantación y cara externa; la ausencia de lesiones en el cuerpo o los genitales de la víctima no descarta la comisión de un ataque sexual, las lesiones no son un condicionante para determinar asalto sexual, puesto que la víctima pudo a ver sido amenazada o estar bajo el influjo de drogas de sumisión o psicofármacos"^{22 23}.

Conclusión

La coloración de azul de toluidina claramente aumenta la visualización de laceraciones genitales, que fueron cuestionables durante la inspección visual o no fueron vistas antes de la aplicación del colorante, se muestra como técnica efectiva a utilizar como tamizaje en medicina forense.

Conflictos de interés

Ninguno declarado por los autores

Financiamiento

Fondos propios

Referencias:

- Encuesta Nacional de Relaciones Familiares y Violencia de Género contra las mujeres Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. 2014 (1). [actualizado 15 Abr 2014; citado 20 sep 2015] Disponible en http://www.inec.gob.ec/sitio_violencia/.
- Fiscalía General del Estado. Gobierno del Ecuador. Quito – Ecuador. Fiscalía General del Estado. [citado 20 sep 2015] Disponible en www.fiscalia.gob.ec/index.php/sala-de-prensa/.../115-estadisticas.html
- Organización Mundial de la Salud. Violencia contra la mujer: violencia de pareja y violencia sexual contra la mujer. Nota descriptiva N°. 239. 2011. Ginebra, Organización Mundial de la Salud. [actualizado 15 Jul 2011; citado 20 sep 2015] Disponible en <http://www.google.com.ec/url> <http://www.google.com.ec/url>.
- Asamblea Nacional del Ecuador. Código Orgánico Integral Penal, 2015 (180) 28-29. [actualizado 20 Ago 2015; citado 20 sep 2015] Disponible en www.registrofiscal.gob.ec
- Everett RB, Jimerson GK. The rape victim--a review of 117 consecutive cases. *Obstet Gynecol* 1977;50:88. 5. [actualizado 15 Jul 2014; citado 20 sep 2015] Disponible en <http://pubmedcentralcanada.ca/pmc/articles/PMC2587067/>
- Hayman CR, Lanza C, Fuentes R. Rape in the District of Columbia. *Am J Obstet Gynecol* 1992;113:9L. [citado 20 sep 2015] Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1293591/>
- Bowyer L, Maureen E. Dalton. Female victims of rape and their genital injuries. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* May 1997, (104), pp. 617-620. [citado 20 sep 2015] Disponible en <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1471-0528.1997.tb11543.x/pdf>
- García CR, Emich JP. Management of sexually assaulted females. *Obstet Gynecol* 1971(38) 1.
- Lauber AA, Souma ML. Use of toluidine blue for documentation of traumatic intercourse. *Obstet Gynecol* 1982;60:622-48. [citado 20 sep 2015] Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7145256>
- Richart RM. A clinical staining test for the in vivo delineation of dysplasia and carcinoma in situ. *Am J Obstet Gynecol*. 1963 Jul 15;86:703-712. [citado 20 sep 2015] Disponible en http://www.researchgate.net/publication/9585316_Clinical_Staining_Test_for_In_Vivo_Delineation_of_Dysplasia_and_Carcinoma_In_Situ
- Shambulingappa P, Soheyl S, Amit A, Deepak G, Ravinder S, Roopika H., et al. Toluidine blue staining as an adjunctive tool for early diagnosis of dysplastic changes in the oral mucosa. *J Clin Exp Dent*. 2013 Oct; 5(4): e187-e191. [actualizado 13 Oct 2013; citado 20 sep 2015]. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3892241/>
- Cancela P, Cerero R, Gomez E, Llamas S, Warnakulasuriya S. The use of toluidine blue in the detection of premalignant and malignant oral lesions. *Journal of Oral Pathology & Medicine* 2011 (40). [actualizado 20 Ago 2015; citado 20 sep 2015] Disponible en http://www.readcube.com/articles/10.1111%2Fj.1600-0714.2010.00985.x?r3_referer=wol&tracking_action=preview_click&show_checkout=1&purchase_referrer=onlinelibrary.wiley.com&purchase_site_license=LICENSE_DENIED
- Collins CG, Hansen LH, Theriot E. A clinical stain for use in selecting biopsy sites in patients with vulvar disease. *Obstet Gynecol* 1966;28:158-63. [actualizado 13 Oct 2013; citado 20 sep 2015] Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4161459?dopt=Abstract>
- McCauley J, Gorman RL, Guzinski G. Toluidine blue in the detection of perineal lacerations in pediatric and adolescent sexual abuse victims. *Pediatrics* 1996;78:1039-43. [citado 20 sep 2015]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1616422>
- Bays J, Lewman LV. Toluidine blue in the detection at autopsy of perineal an anal lacerations in victims of sexual abuse. *Arch Pathol Lab Med* 1992;116:285-6. [citado 20 sep 2015]. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1616422>
- Friedrich EG. Toluidine blue test. Vulvar disease Major problems in obstetrics and gynecology 1976;9:304.
- Tyagi S, Tripathi Ri, Batra S. Clinical Scoring System to Detect Malignant and Premalignant Vulva Lesions. *J Obstet Gynaecol India*. 2013; 64(1): 41-46. [actualizado 13 Feb 2014; citado 20 sep 2015] Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3931903/>
- Jeffrey S, Dunnuck C, Rossman L, Wynn B, Nelson C. Significance of toluidine blue positive findings after speculum examination for sexual assault. *American Journal of Emergency Medicine* May 2004; 22(3). [citado 20 sep 2015] Disponible en <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajem.2004.02.010>
- Jones J, Rossman L, Hartman M, et al. Anogenital injuries in adolescents after consensual sexual intercourse. *Acad Emerg Med*. 2003;10:1378-83. [citado 20 sep 2015] Disponible en www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15138957
- Hochmeister, M.N., Whelan, M., Borer, U.V., Gehrig, C., Binda, S., Berzlanovich, A., Rauch, E., Dirnhofner, R. Effects of toluidine blue and destaining reagents used in sexual assault examinations on the ability to obtain DNA profiles from postcoital vaginal swabs. 1997. *Journal of Forensic Science*, 42(2):316-319. [citado 20 sep 2015] Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9068192>
- Jones, J.S., Dunnuck, C., Rossman, L., Wynn, B.N., Nelson-Horan, C., (2004). Significance of toluidine blue positive findings after speculum examination for sexual assault. *American Journal of Emergency Medicine*, 22(3):201-203. [actualizado 15 Jul 2011; citado 20 sep 2015] Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15138957>
- Khandekar I. Forensic medical care for victims of sexual assault sexual assault. Copyright: Department of Health Research 2013 (68). [citado 20 sep 2015] Disponible en www.icmr.nic.in/.../1%20DHR%20Forensic%20Med
- Guaico LG. Pericias Médico Legales, Examen Sexológico Forense Ied, Ecuador: Editorial letras y signos; c2014 p32-37.