

50524
59



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

EXAMEN DE LOS FLUIDOS BIOLÓGICOS COMO INDICIOS EN LA INVESTIGACION DE UN HECHO DELICTUOSO

T E S I S I N A
MODALIDAD: MONOGRAFIA
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :
LUZ MELINA / LAGUNA VALVERDE

ASESOR: DR. ADELFO REYES RAMIREZ



MEXICO, D. F.

2003

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

A



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**TESIS
CON
FALLA DE
ORIGEN**

El presente trabajo se realizó en la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, bajo la dirección del Dr. Adolfo Reyes Ramirez, como una opción de titulación que presenta la Carrera de Química Farmacéutico Biológica a través del Diplomado en Química Legal.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CONTENIDO

PÁGINA

I. RESUMEN	1
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2
III. OBJETIVO	3

SECCIÓN I

1. INTRODUCCION	4
1.1. CRIMINALISTICA	4

SECCIÓN II

2. INDICIOS	6
2.1. CLASIFICACIÓN	6
2.2. CUIDADO Y PRESERVACIÓN DE LA EVIDENCIA	6
2.3. BÚSQUEDA DE INDICIOS EN EL LUGAR DE LOS HECHOS	7
2.4. ASPECTO RECONSTRUCTIVO E IDENTIFICATIVO	8
2.5. CADENA DE CUSTODIA	9

SECCION III

3. SEROLOGÍA FORENSE DE SANGRE, SEMEN Y SALIVA	10
3.1. COMPOSICIÓN DE LA SANGRE	10
3.2. MEMBRANA DEL ERITROCITO	11
3.3. SISTEMA ABO	12
3.4. SISTEMA Rh	14
3.5. SEMEN, CARACTERES DEL ESPERMA	15
3.6. SALIVA	17

SECCIÓN IV

4. HEMATOLOGÍA FORENSE	18
4.1. MANCHAS DE SANGRE	18
4.2. EXÁMEN MORFOLÓGICO	19
4.3. RECOLECCIÓN Y ENVÍO AL LABORATORIO	22
4.4. IDENTIFICACIÓN DE LAS MANCHAS	23
4.4.1. Reacciones de orientación	24
4.4.2. Reacciones de confirmación	26
4.4.3. Origen humano de la sangre	29
4.4.4. Origen individual de la sangre	32
4.4.5. Naturaleza de la sangre derramada	37
4.4.6. Antigüedad de las manchas de sangre	38

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

c

SECCION V

5. IDENTIFICACIÓN DE SEMEN	39
5.1. MANCHAS DE SEMEN	39
5.2. RECOLECCIÓN DE MATERIAL	40
5.3. DIAGNÓSTICO GENÉRICO	42
5.3.1. Examen microscópico	42
5.3.2. Investigación de espermina y colina	42
5.3.3. Investigación de la fosfatasa ácida	44
5.3.4. Métodos inmunológicos	44
5.4. DIAGNÓSTICO ESPECÍFICO	45
5.5. DIAGNÓSTICO INDIVIDUAL	45

SECCIÓN VI

6. IDENTIFICACIÓN DE SALIVA	
6.1. MANCHAS DE SALIVA	47
6.2. DIAGNÓSTICO GENÉRICO	47
6.3. DIAGNÓSTICO ESPECÍFICO	48
6.4. DIAGNÓSTICO INDIVIDUAL	48

CONCLUSIONES	49
--------------	----

BIBLIOGRAFÍA	50
--------------	----

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

I. RESUMEN

Este proyecto tiene como finalidad establecer el papel que juegan *los fluidos biológicos como sangre, semen, y saliva* en la investigación de un hecho delictuoso, ya que constituyen la prueba científica del delito por ser uno de los medios más importantes y seguros de prueba que contemple la legislación penal moderna. Así como conocer los métodos experimentales más utilizadas en la actualidad por los laboratorios de Química Forense para este tipo de indicios haciendo más fácil la elección del análisis adecuado para cada indicio asegurando así la recopilación de la mayor cantidad de datos posibles para la identificación del posible autor(es) del delito.

La función principal del Laboratorio de Criminalística consiste en examinar la evidencia física (indicios) mediante la aplicación de la ciencia, con el fin de poder reconstruir el hecho delictivo e identificar a su (s) autor (es).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la actualidad se vive una problemática social agresiva y devastadora, los delitos en todas sus gamas se realizan minuto a minuto a nuestro alrededor y los delitos de agresión sexual son de los más traumáticos y difíciles de superar física y emocionalmente por la víctima.

En la mayoría de los hechos delictivos, los fluidos biológicos que se encuentran con más frecuencia son la sangre, el semen y la saliva. Estos indicios constituyen la prueba científica del delito, siendo uno de los medios más importantes y seguros de prueba que contemple la legislación penal moderna, por lo cual como Químicos en el área Forense tenemos que concientizarnos de la gran responsabilidad que se tiene de analizar correctamente los indicios, recordándose que en el laboratorio solo se estudia lo que se envía y que el análisis se inicia sobre el indicio que se recibe, no sobre el que se manda, y que a través de los datos que arrojan estos análisis se puede individualizar al autor de los hechos. Conocer y manejar las ventajas y limitaciones de estos indicios biológicos y de las técnicas que se les realizan, nos permitirán aprovechar al máximo todos y cada uno de ellos. Los resultados obtenidos con estos indicios forman tan solo una parte de la investigación, la cual se ve completada con los resultados de otros análisis más complejos y completos como lo son las técnicas de ADN en indicios biológicos; la información que se obtiene de otros indicios como pueden ser balas, armas de fuego, documentos, huellas digitales, etc.

Por las razones antes expuestas, este trabajo monográfico tiene como finalidad el ser para los químicos forenses una útil herramienta de trabajo ya que se recopilan las pruebas más utilizadas actualmente (para indicios de sangre, semen y saliva) en los laboratorios forenses así como sus técnicas y los principios básicos para que se entiendan los fundamentos de las primeras. La importancia de manejar estas pruebas radica en primer instancia en la parte económica, ya que la mayoría de los laboratorios no tienen la posibilidad de contar con laboratorios de genética que hoy por hoy es el área de punta para la identificación de personas a través de los estudios de ADN; pero que tienen la gran desventaja de ser laboratorios sumamente costosos.

III. OBJETIVO

Recopilar la información más reciente acerca de las pruebas que se realizan a fluidos biológicos como sangre, semen y saliva considerados como los indicios de mayor frecuencia en la mayoría de los delitos, minimizando el tiempo de trabajo al descartar pruebas obsoletas y de resultados poco confiables.

I. INTRODUCCIÓN

I.1. CRIMINALÍSTICA

Los indicios, o sea el material sensible significativo relacionado con los hechos que se investigan, constituyen el objeto formal de estudio de la *criminalística*. El término indicio deriva de *indicare* que significa indicar, descubrir, denunciar. El término *criminalística* fue empleado por primera vez por Hans Gross en su libro acerca de los conocimientos científicos y técnicos en la investigación criminal.

El maestro mexicano Moreno González define la criminalística como "la disciplina que aplica fundamentalmente los conocimientos, métodos y técnicas de investigación de las ciencias naturales en el examen del material sensible significativo relacionado con un presunto hecho delictuoso, con el fin de determinar en auxilio de los órganos encargados de administrar justicia, su existencia o bien reconstruirlo, o bien señalar y precisar la intervención de uno o varios sujetos en el mismo"¹

El profesor J. A. Gisbert Calabuig define a la criminalística como "la ciencia que estudia los indicios dejados en el lugar del delito, gracias a los cuales se puede establecer, en los casos más favorables, la identidad del criminal y las circunstancias que concurren en el hecho delictivo"².

Mientras que definiciones aceptadas para indicio son: Según J. L. Clement, es "todos los objetos y todas las señales o huellas relacionadas directa o indirectamente con los hechos delictuosos que se investigan". Para los hermanos José Antonio y Miguel Lorente Acosta es "todo lo que el sospechoso deje o se lleve del lugar del delito, o que de alguna manera pueda conectarse con este último"³.

La criminalística emplea el método científico deductivo. De este modo, a partir de una verdad general se llega al conocimiento de una verdad particular.

Para ello, la criminalística se basa en cuatro principios:

- a) Principio del intercambio
- b) Principio de correspondencia
- c) Principio de reconstrucción de fenómenos o hechos
- d) Principio de probabilidad

➤ El principio de intercambio fue formulado por el investigador francés Locard, señala que en la comisión de un delito el autor deja indicios de su parte y, a la vez, arrastra otros que provienen del lugar de los hechos.

➤ El principio de correspondencia de características hace posible establecer, después de un cuidadoso cotejo, que dos impresiones dactilares corresponden a la misma persona o que dos proyectiles fueron disparados por la misma arma.

➤ El principio de reconstrucción de fenómenos o hechos permite deducir de los indicios recogidos en la escena de hecho, de qué forma ocurrió éste.

➤ El principio de probabilidad permite deducir la probabilidad o imposibilidad de un fenómeno con base en el número de características verificadas durante el cotejo. Consiste en la recolección de datos y en el análisis sistemático de los mismos.

Los indicios pueden encontrarse tanto en el escenario del delito, en el cuerpo de la víctima o del victimario, como de las áreas relacionadas, ya sean próximas o distantes. Su estudio constituye la prueba científica del delito.

A partir del siglo XVIII las pruebas materiales (indicios) empezaron a estudiarse seriamente en las investigaciones policiales. Gracias al progreso de la ciencia su papel es, en etapas sucesivas, cada vez más preponderante.

Existe una gran diversidad de indicios; por lo tanto, su estudio exige en rigor la concurrencia de especialistas muy diversos, por lo que cobra toda su fuerza y dimensión la expresión "ciencias forenses".

2. INDICIOS

2.1. CLASIFICACIÓN

Los hermanos Lorente Acosta los clasifican según su naturaleza en orgánicos e inorgánicos²; tomando en cuenta su tamaño en macroscópicos o microscópicos; según su capacidad individualizadora, con características individuales o con características de clase, y finalmente, si fueron dejados o tomados del lugar de los hechos en positivos o negativos.

Los indicios que podemos encontrar en el escenario del delito son diversos: huellas (dermopapilares, de pasos, de dientes, de uñas, de vestidos, de animales, de vehículos, de fractura, etc.), objetos (instrumentos, armas, proyectiles, casquillos, papeles, cuerdas, etc.), manchas (de sangre, de semen, de orina, obstétricas, fecales, etc.), pelos, fibras, polvos, etc.

El examen forense de los indicios, también denominados evidencia física, comprende los siguientes pasos: su reconocimiento en la escena del crimen, su registro documental con relación a la propia escena, su colección y preservación, su análisis, la interpretación de los resultados derivados de su examen y, finalmente, el reporte de los mismos, es decir, la emisión del dictamen.

2.2. CUIDADO Y PRESERVACIÓN DE LA EVIDENCIA.

Cuando el experto llega al lugar del delito, debe estar preparado para manejar y reconocer la evidencia. Debe procurar hacer acto de presencia a la mayor brevedad posible, ya que conforme pasan las horas la evidencia (indicios) se destruye, altera o, en el peor de los casos, desaparece. El proceder con método, sin precipitaciones y sin prejuicios es la regla.

Debido a que no puede observar todo detenidamente, debe discriminar e intentar seleccionar sólo lo significativo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Para cuidar y preservar la evidencia, los investigadores norteamericanos Anthony L. Califano y Jerome S. Leokov recomiendan proceder de la siguiente manera:²

1. Asegurar la escena del crimen, "no tocar nada".
2. Fotografiar toda la escena desde diferentes ángulos y, así mismo hacer un bosquejo de la misma, siendo preciso en las dimensiones.
3. Buscar detenidamente la evidencia, lo que resulte significativo.
4. Tomar grandes acercamientos de la evidencia, a fin de que las fotografías muestren su posición exacta, antes de ser levantadas.
5. Levantar y marcar la evidencia lo más pronto posible, momento en que inicia la "cadena de custodia".
6. Embalar la evidencia.
7. Registrar por escrito todos los detalles de la escena del crimen.
8. Entregar la evidencia al laboratorio de criminalística, procurando en su traslado y recepción seguir guardando la "cadena de custodia".
9. Resguardar la evidencia en un lugar seguro y apropiado, una vez terminado su examen.

2.3. BÚSQUEDA DE INDICIOS EN EL LUGAR DE LOS HECHOS

Según Helmut Koetzsche una investigación que llegue a lograr un buen éxito depende, en gran parte, de la habilidad para reconocer y descubrir pruebas en la escena donde se cometió el delito. Lo que se descubre depende de la capacidad y de la experiencia del detective encargado del caso².

Carlos A. Guzmán recomienda seguir los siguientes pasos lógicos, a fin de lograr, con el menor margen de error, la detección, documentación y secuestro adecuado de la evidencia física²:

1. Acceso al lugar.
2. Aseguramiento y protección del mismo.
3. Inspección preliminar.
4. Descripción narrativa.
5. Fotografiado.
6. Relevamiento planimétrico.
7. Evaluación de la evidencia en forma de impresiones dactilares latentes.
8. Evaluación de la evidencia física.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

9. Búsqueda detallada.
10. Recolección, registro, señalización y preservación de la evidencia.
11. Investigación final para asegurar que el estado del escenario del hecho fue documentado tan completamente como fuera posible.
12. Abandono del lugar.

La inspección preliminar¹ es el paso más importante, ya que promueve un plan organizado de acción y evita la actividad física impensada que destruiría la evidencia pertinente, cuyos propósitos específicos más significativos son los siguientes:

1. Establecer control administrativo y emocional.
2. Delinear la extensión del área de búsqueda.
3. Organizar los métodos y procedimientos que se necesiten.
4. Determinar las necesidades de potencial humano y equipos.
5. Desarrollar una teoría general del delito.
6. Identificar y proteger la evidencia en tránsito.
7. Preparar una descripción narrativa de la escena.

El objetivo de la búsqueda en el lugar de los hechos o sus alrededores, es descubrir indicios, o sea evidencia que permita contestar las siguientes interrogantes: ¿qué ha sucedido?, ¿quién es la víctima?, ¿quién es el autor?, ¿cómo y con qué su produjo el hecho?, ¿cuándo?, ¿dónde se cometió? y ¿por qué se produjo?.

2.4. ASPECTO RECONSTRUCTIVO E IDENTIFICATIVO

Considerados conjuntamente los indicios nos permiten reconstruir el hecho que se investiga, siempre y cuando no se haya cambiado su ubicación, su posición y su morfología, tratándose de las manchas. Deben ser cuidadosamente protegidos y conservados sin sufrir alteración alguna para que sea posible individualizar al autor de los hechos².

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2.5. CADENA DE CUSTODIA

Se debe tener un registro fiel del curso seguido por los indicios, es decir, qué personas lo tuvieron en sus manos, a partir del momento que fueron levantados del escenario del delito, hasta que fueron entregados al laboratorio de criminalística y finalmente resguardados. Cuando no se guarda cuidadosamente, el indicio descubierto puede perder valor en el proceso penal.

Para que tengan valor criminalístico y procesal, los indicios deben guardar relación con el hecho primordial que debe servir de inicio para la conclusión que se busca; que reunidos en su totalidad no lleven a conclusiones diferentes, que conduzcan lógica y naturalmente al hecho de que se trate, es decir, que sean directos; que sean concordantes entre sí, y finalmente, que se funden en sucesos reales o probados, nunca en otras presunciones o indicios'.

Como el escenario del delito es una fuente valiosa de información de los hechos que se investigan, todo lo que resulte significativo debe documentarse y secuestrarse, evitando siempre en esta delicada labor prejuicios y precipitaciones.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3. SEROLOGÍA FORENSE DE SANGRE, SEMEN Y SALIVA

3.1. COMPOSICIÓN DE LA SANGRE

La sangre está compuesta¹ de líquido, plasma y elementos celulares, que incluyen leucocitos, plaquetas y eritrocitos. El adulto normal tiene alrededor de seis litros de este líquido vital, lo que constituye 7-8% del peso corporal total. El plasma representa más o menos del 54-55% del volumen sanguíneo, en tanto que los eritrocitos forman del 44-45% y los leucocitos y plaquetas el 1% **FIGURA 1**.

Los eritrocitos contienen la proteína vital hemoglobina, que se encarga del transporte de oxígeno y bióxido de carbono, poseen en su membrana sustancias químicas importantes como los antígenos de grupo sanguíneo, enzimas, etc. Los leucocitos son de 5 tipos: linfocitos, monocitos, eosinófilos, basófilos y neutrófilos. Se ocupan de la defensa contra antígenos extraños.

Las plaquetas son necesarias para la hemostasia. Las células sanguíneas viajan a través de los vasos y son distribuidas a todos los tejidos corporales. Los eritrocitos y las plaquetas actúan sin abandonar la circulación; pero los leucocitos, por medio de la diapédesis (paso a través de las paredes vasculares), pasan a los tejidos donde desarrollan su actividad de defensa.

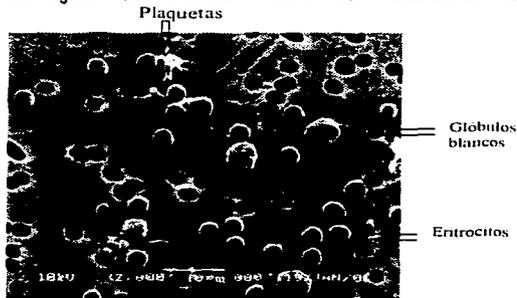


FIGURA 1. Componentes celulares de la sangre: eritrocitos, leucocitos y plaquetas.

3.2. MEMBRANA DEL ERITROCITO

La membrana del eritrocito es un complejo bífosfolipídico proteínico compuesto de 49% de proteínas, 43% de lípidos y 8% de carbohidratos.

Hay cuatro tipos principales de fosfolípidos en la membrana eritrocitaria: fosfatidiletanolamina (cefalina), fosfatidilcolina (lecitina), esfingomielina y fosfatidilserina. Una porción pequeña de los lípidos membranales son glucolípidos, los cuales confieren algunas de las propiedades antigénicas a la membrana, en particular las que corresponden a los grupos sanguíneos A, B, O y Lewis. Las glucoproteínas tienen ordenamientos específicos de hexosas que determinan las propiedades antigénicas².

Las proteínas de la membrana del eritrocito son de dos tipos principales: integrales y periféricas.

Las proteínas integrales son de dos tipos principales, glucoforina A y banda 3. Las proteínas tipo glucoforina A transportan antígenos MN y sirven como receptores para ciertos virus y lectinas. La proteína banda 3 está encargada del transporte de aniones a través de la membrana³.

Las proteínas periféricas de la membrana carecen de fracciones carbohidrato y están confinadas al lado citoplasmático de la capa bilipídica. Estas proteínas incluyen a enzimas como la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (banda 6) y las proteínas esqueléticas espectrina, actina, anquirina, banda 4.1 y banda 4.9. **FIGURA 2**

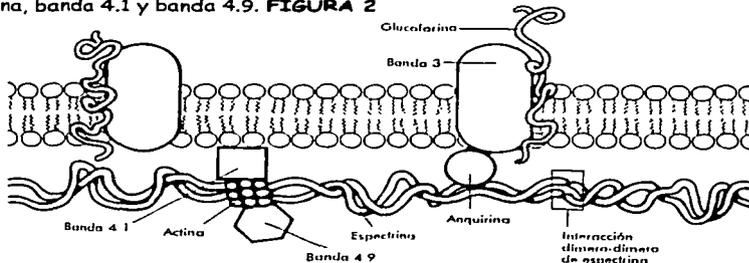


FIGURA 2. Esquema de la membrana eritrocitaria.

3.3. SISTEMA ABO

En 1901, Landsteiner descubrió la existencia del sistema ABO, al observar que la sangre humana tenía características individuales que se manifestaban por reacciones de aglutinación, ya que los eritrocitos de unas personas eran aglutinados o agrupados por el suero sanguíneo de solamente algunos otros individuos. Este descubrimiento dio origen al hallazgo de otros grupos como el MN, el P, el sistema Rh y muchos más, cuya frecuencia dependía de los factores geográficos, raciales y étnicos⁵.

Landsteiner observó que los eritrocitos humanos podían clasificarse en tres grupos (A, B y O) de acuerdo a la presencia de antígenos específicos en la membrana eritrocitaria. El cuarto grupo (AB), de menor frecuencia fue descubierto en 1902 por Von Decastello y Sturly.

Landsteiner demostró que los glóbulos rojos contenían por lo menos dos factores designados como aglutinógenos A y B, con los cuales se podía explicar los cuatro grupos que existían y así postuló que cada persona podía tener uno de ellos (A o B), ambos (AB) o ninguno (O). Reconoció la presencia de anticuerpos en el suero (Anti-A y Anti-B) y señaló la relación recíproca que había entre ellos y los antígenos presentes en los glóbulos rojos demostrando que cuando un determinado antígeno estaba ausente, su correspondiente anticuerpo se encontraba en el suero o plasma⁶, **TABLA 1**.

TABLA 1. Antígenos y anticuerpos del Sistema ABO

Grupo sanguíneo	Antígenos	Anticuerpos	Genotipo
O	H	Anti-A, B	OO
A	A	Anti-B	AO-AA
B	B	Anti-A	BO-BB
AB	A y B	Ninguno	AB

Bioquímica de los Antígenos. Gran parte del conocimiento que se tiene acerca de la bioquímica de los antígenos ABH provienen de los estudios realizados en las sustancias A, B y H presentes en las secreciones.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

La razón para ello es que estas sustancias se encuentran en muy pequeñas cantidades en los glóbulos rojos, en cambio su concentración es superior en las secreciones. Cerca de 80% de la gente secreta estas sustancias grupales⁽⁴⁾ solubles en agua, en sudor, saliva, semen y otros líquidos corporales. Estos "secretores" se pueden identificar de las manchas seminales e incluso de la saliva de mordidas siempre y cuando las técnicas sean sensitivas para detectar las sustancias grupales".

Las investigaciones en estos productos establecieron, que la especificidad de estas sustancias ABH se debía a estructuras de carbohidratos unidos a polipéptidos. **FIGURA 3**

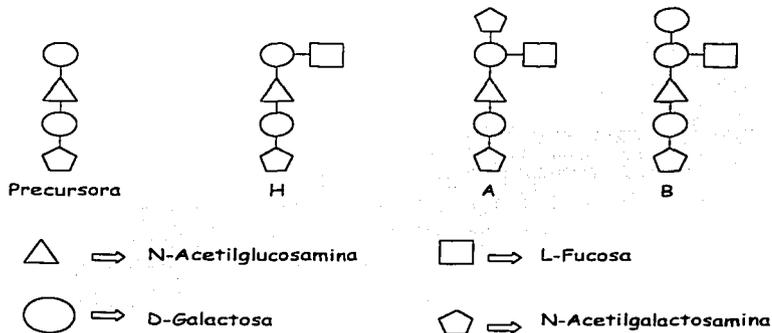


FIGURA 3. Representación esquemática de la síntesis bioquímica de los antígenos ABH.

3.4. SISTEMA Rh

En 1940 Landsteiner y Wiener inmunizaron conejos y cobayos con glóbulos rojos de monos *Macacus rhesus*; obtuvieron un suero que aglutinaba los glóbulos rojos de los monos rhesus y del 85% de la población blanca de Nueva York. Las personas cuyas células eran aglutinadas por el nuevo suero anti-rhesus fueron clasificadas como Rh positivo y el restante 15% que no reaccionaban, como Rh negativo.

Subsecuentes investigaciones demostraron que la mayoría de los glóbulos rojos humanos contienen el antígeno del Rhesus y además otro diferente pero relacionado con este. A sugerencia de Levine, se conservó la denominación de factor Rh para el antígeno del humano y se asignó el nombre de LW al antígeno común al hombre y el mono. A diferencia del sistema ABO, en donde existen anticuerpos naturales, las personas Rh negativo no contienen bajo condiciones normales, anticuerpos anti-Rh^s. La formación de este anticuerpo es casi siempre el resultado de la exposición por transfusión o embarazo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.5. SEMEN. CARACTERES DEL ESPERMA

El espermatozoide humano es un líquido filante, cremoso, de color opalino, que tiende a amarillo verdoso cuando pasa el tiempo y de olor típico. Consta de dos elementos distintos: 1) los espermatozoides (células), que proceden de los tubos seminíferos del testículo, y 2) el plasma seminal que procede del epidídimo, próstata, vesículas seminales y glándulas de Cowper. El plasma seminal sirve como soporte, vehículo, medio nutricional y de estabilización al espermatozoide*.

El espermatozoide humano se encuentra entre las células más pequeñas del organismo; su longitud es de 0.04 a 0.06 mm, tiene forma de un filamento en la que se distinguen tres partes: cabeza, zona intermedia y cola, **FIGURA 4**. El eyaculado normal es de 2 a 4 mL conteniendo unos 100 millones de células por mililitro*.

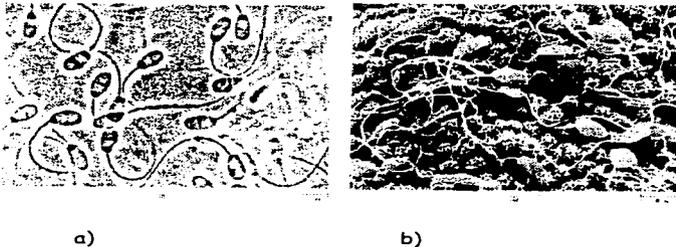


FIGURA 4. Espermatozoides (a) microscopio óptico y (b) microscopio electrónico de barrido.

El plasma seminal posee las siguientes características*:

1. *Bioquímicas.*

Glucósidos: fructosa, ribosa, inositol y sorbitol.

Compuestos nitrogenados: Gran concentración de aminoácidos libres, aminas (espermina, colina y etanolamina), ergotioneína.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2. *Antigénicas.*

Albúmina, dos o tres α -globulina (una de ellas es una fosfatasa ácida y otra una glucoproteína), dos β -globulina (una de ellas es una siderofilina) y una γ -globulina. De los ocho antígenos descritos en el plasma seminal cuatro son específicos del mismo, es decir, tienen especificidad de órgano.

3. *Enzimáticas.*

Fibrinolisisina, aminoxidasa, fosfatasa ácida, fosfatasa alcalina, 5-nucleotidasa.

4. *Lípidos.*

Lecitinas y ácidos grasos (prostaglandinas).

5. *Minerales.*

Cinc y calcio

3.6. SALIVA

En las glándulas salivales los gránulos secretorios (cimógeno) que contienen las enzimas salivales se descargan en los conductos a partir de las células acinosas. Diariamente se secretan cerca de 1,500 mL de saliva. El pH de la saliva que proviene de glándulas en reposo es ligeramente menor de 7.0 pero se aproxima a 8.0 durante la secreción activa. La saliva contiene dos enzimas digestivas: la lipasa lingual secretada por las glándulas de la lengua, y la alfa-amilasa salival secretada por las glándulas salivales. La saliva también contiene mucinas, glucoproteínas lubricantes del alimento y protectoras de la mucosa oral. Además contiene Inmunoglobulinas A (las IgA son la primera defensa inmunitaria contra las bacterias y los virus); lisozima, que ataca las paredes bacterianas; lactoferrina, que secuestra el hierro y presenta actividad bacteriostática; proteínas abundantes en prolina que protegen el esmalte del diente y sustancias grupales idénticas a sus grupos sanguíneos (secretores)*.

La saliva tiene a su cargo funciones como facilitar la deglución, conservar la boca húmeda, sirve como disolvente para las moléculas estimulantes de las papilas gustativas, ayuda al habla ya que facilita los movimientos de los labios y de la lengua, además conserva la boca y los dientes limpios.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

4. HEMATOLOGÍA FORENSE

4.1. MANCHAS DE SANGRE

En todo acto de agresión, cuando un hombre ataca a otro hiriéndolo grave o mortalmente, la sangre vertida reviste una importancia capital. De tiempo atrás, el examen de los rastros sanguinolentos ocupa un lugar preferente en las actuaciones, y es considerado uno de los datos más importantes y decisivos, elocuentes y probatorios, en relación con el hecho investigado.

Las condiciones y circunstancias de la muerte, las fases de la lucha, el mecanismo del crimen se encuentran precisadas por las particularidades del derramamiento de sangre¹⁰, por la situación y forma de las manchas, por su posición con relación a la víctima, por su presencia sobre el vehículo que ha servido para transportar el cadáver, y en los lugares donde fue depositado.

Las manchas de sangre deben buscarse en el cuerpo de la víctima, sobre el acusado y en las ropas de ambos; en instrumentos, huellas dactilares¹¹ en paredes, suelo y muebles, picaportes de puertas y ventanas, barandilla de escalera, etc.

En armas blancas, se debe investigar la presencia de sangre en la unión de la hoja con el mango; en el suelo, en las uniones de los mosaicos; en los muebles, en la parte inferior de la cubierta de mesas y escritorios y en los cajones¹².

En las personas, se debe buscar sangre desecada debajo de las uñas, en los surcos alrededor de las uñas y en el pelo.

En las ropas, se pesquisan en los forros y en los bolsillos; en los zapatos, en el surco entre la suela y la parte que recubre el pie. La antigüedad y la naturaleza del soporte en que se encuentran, modifican el color de las manchas.

El estudio de los rastros de sangre abarca dos momentos: el químico, que se lleva a cabo en el laboratorio fundamentalmente; y el reconstructivo, que se cumple en el escenario del delito¹. Por estas trazas e impresiones sangrientas,

se reconstruye el hecho y, a veces, es posible llegar al conocimiento del mecanismo del delito. Esta fase del examen e interpretación de las manchas y rastros de sangre en el lugar de la tragedia, es la exploración preliminar. Después de esta fase, denominada hematoscópica por Israel Castellanos¹, se procede al levantamiento y transportación al laboratorio (cadena de custodia).

La sangre derramada o lanzada, vertida o proyectada, babeada o arrojada, es el indicio más valioso, el rastro más importante que puede encontrarse en la escena del delito. No solamente tiene una importancia decisiva para demostrar la perpetración del delito, sino que también aporta un sólido fundamento para la acusación, constituyendo muchas veces la única prueba plena fehaciente, que conduce, inequívocamente, a la sentencia del acusado.

4.2. EXAMEN MORFOLÓGICO

La situación y la forma de las manchas vienen condicionadas por la naturaleza y localización de la herida, posición de la víctima, movimientos, desplazamientos, **FIGURA 4**. Estos diferentes factores hacen variar la cantidad de sangre esparcida y el ángulo de caída de sangre, de donde resulta la configuración de las manchas².

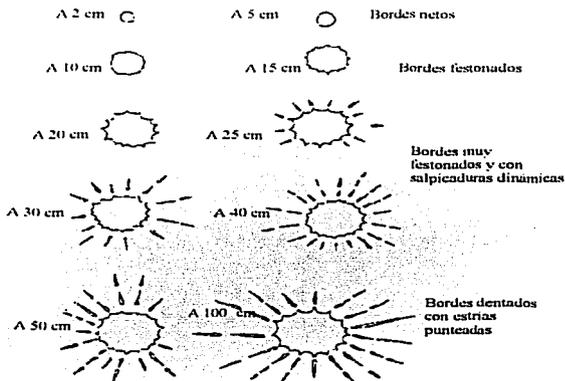


FIGURA 4. Las formas y figuras de las manchas de sangre pueden variar en tamaño y características morfológicas debido a la cantidad, origen, dimensión de la lesión en profundidad y longitud; así como del soporte que la recibe.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Según el mecanismo de su formación, las manchas de sangre pueden clasificarse del siguiente modo:^{1,13}

Manchas de proyección. Comprenden gotas y salpicaduras. Tiene lugar cuando la sangre sale proyectada con cierta fuerza viva, bien describiendo una curva parabólica o bien, en caída libre.

Manchas de escurrimiento. Son los charcos y regueros. La sangre babea y, por concentración de cierta cantidad al ir cayendo por acción de la gravedad, forma regueros, charcos.

Manchas por contacto. Se incluyen las impresiones sangrantes de pies, manos, etc. Cualquier objeto ensangrentado al contactar con un sustrato deja una impresión.

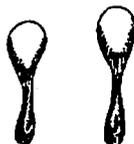
Manchas por impregnación. Se producen por imbibición de la sangre en tejidos textiles. Si el tejido es absorbente, la sangre lo empapa y funde por él dando lugar a manchas uniformes, circulares y de bordes netos.

Manchas de limpieza. Pueden quedar en la toalla o el trapo en que se limpió el arma blanca. Se producen unas manchas típicas, de forma rectangular, con soluciones de continuidad y trazos transversales más densos.

En las manchas por proyección, si las gotas caen perpendicularmente forman un disco que, conforme va aumentando la altura, muestra dentellones primero y gotas independientes más tarde. Sin embargo, la naturaleza del soporte, liso o rugoso, compacto o esponjoso, interviene también para modificar el aspecto de las manchas; así, conforme más tosca sea la superficie, mayor será la posibilidad de que la gota se rompa y salpique. Si las gotas caen oblicuamente adquieren la forma de un signo de admiración, con la parte más gruesa hacia el lugar de origen. **FIGURA 5**



a) A 10 cm de altura con inclinación de 30 grados, forma oval.



b) A 10 cm de altura inclinación de 45 grados, forma de raqueta, acumulación y abultamiento en la parte inferior.



c) Inclinación 60 grados, a 10 cm de altura; forma de raqueta y lágrima, acumulación y abultamiento en la parte inferior



d) A 10 cm de altura, inclinación de 90 grados; alargamiento total, acumulación y abultamiento en la parte inferior.

FIGURA 5. Las huellas de sangre que gotean sobre un plano inclinado sin que la persona tenga movimiento, se presentan ovales y alargadas con escurrimientos largos en la parte inferior, depende del ángulo de inclinación.

La adopción de una terminología práctica y sencilla, no sólo es un requerimiento idiomático, sino una exigencia de la propia técnica criminalística.

En cuanto al aspecto general, las manchas recientes son rojas, luego parduscas y más tarde negruzcas, debido a las transformaciones de la hemoglobina.

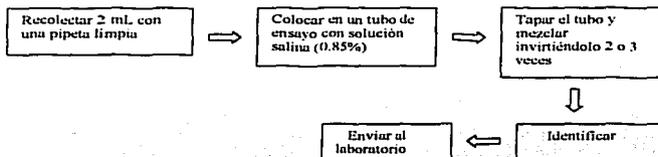
TESIS CON
FALLA DE ... EN

4.3. RECOLECCIÓN Y ENVÍO AL LABORATORIO

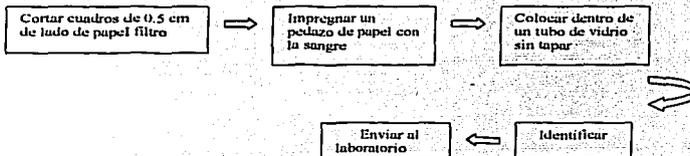
Se considera que de los tipos más comunes de indicios en escenarios de delitos, la sangre quizá sea la más frágil. Los indicios biológicos se deterioran con el tiempo. La desecación y la congelación de las muestras retardan este deterioro.

a) Muestras líquidas¹⁴

I.

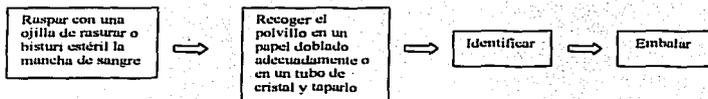


II.

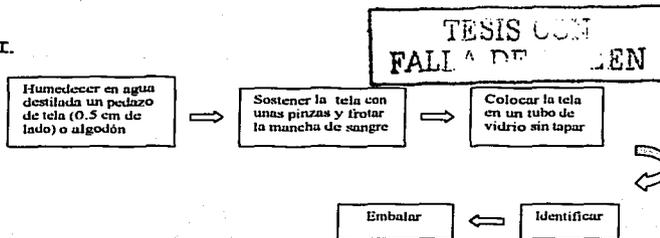


b) Muestras secas¹⁴

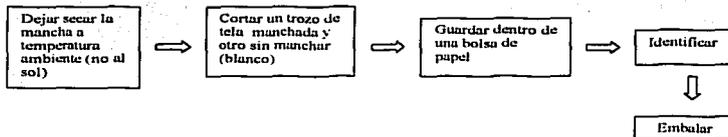
I.



II.



c) Ropas¹⁴



En caso de objetos manchados de sangre, lo ideal es enviar el objeto o artículo completo, en vez de remover la sangre. Si la sangre tiende a desprenderse conviene recolectarla y envasarla separadamente. De una manera general, se debe especificar el lugar de procedencia, así como las dimensiones y características de las manchas.

4.4. IDENTIFICACIÓN DE LAS MANCHAS

Los caracteres macroscópicos de las manchas de sangre son insuficientes para diferenciarlos de falsas manchas que tienen la misma apariencia. Por ello es necesario someterlas a reacciones de identificación tras haberlas disuelto por maceración, en algunas gotas de agua destilada¹⁵.

Las reacciones de identificación de la sangre utilizadas, no tienen todas el mismo valor desde el punto de vista de su especificidad y de su sensibilidad.

La metodología criminalística utilizada en la identificación de la sangre, es acorde al método científico, esto es, la comprobación de la hipótesis de trabajo, mediante la experimentación que en este caso se logra a través de las siguientes técnicas¹⁴:

- a) De orientación
- b) De confirmación
- c) Para determinar el origen de la sangre
- d) Determinación del grupo sanguíneo

4.4.1. REACCIONES DE ORIENTACIÓN

Son extraordinariamente sensibles, pero carecen de especificidad.

Se basan en la presencia en la sangre de peroxidasa que son capaces de descomponer un peróxido (agua oxigenada, peróxido de bario) desprendiendo oxígeno. Una gota de agua oxigenada o de hipobromito sódico depositada sobre una mancha de sangre, hace aparecer gran número de pequeñas burbujas gaseosas visibles a la lupa; pero ciertas frutas como la manzana, zarzamora, así como el frijol y la papa; o productos biológicos como saliva, moco y pus; herrumbre y estiércol; producen el mismo fenómeno⁸.

Ciertas materias colorantes poseen la propiedad de ser incoloras si son reducidas (leucoderivados) y de recuperar su coloración original por oxidación en presencia de una peroxidasa y de un peróxido tal como el agua oxigenada.

Estas reacciones tintoriales se esquematizan de la manera siguiente:

Leucoderivado + peroxidasa + peróxido \longrightarrow coloración

La sangre por su pigmento ferruginoso tetrapirrónico, es una de las peroxidasa más activas, y las reacciones colorantes se observan incluso cuando está desecada o putrefacta. Aparte de la sangre, otras peroxidasa (leche, jugo de frutas, etc.), ciertos catalizadores minerales (sales de cobre, níquel, cobalto, fierro, etc.), la mayor parte de los oxidantes (permanganatos, dicromatos, etc.) pueden igualmente dar reacciones de coloración positivas.

Las reacciones colorantes más favorables son las siguientes:

➤ *Reacción de Adler*, a la bencidina¹⁴. El grupo hemo de la hemoglobina posee esa actividad enzimática, que puede catalizar la ruptura del peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno, que al reaccionar con la bencidina la oxidarán formando un compuesto intensamente azul. (Solución saturada en ácido acético al 3%) en presencia de sangre y de agua oxigenada (a 10 volúmenes).

➤ *Reacción de Kastle-Meyer*⁸, utiliza una solución alcalina de fenoltaleína reducida en caliente por el polvo de cinc. Esencialmente la sigue el mismo principio que se señaló para la reacción de Adler, la diferencia estriba en que la fenoltaleína debe ser reducida previamente a fenoltaleína incolora, y se trabaja en medio alcalino en vez de medio ácido. La sangre y el agua oxigenada fresca y diluida dan la coloración roja de la fenoltaleína alcalina.

Se humedece un hisopo con solución salina, se frota la muestra problema y se pasa a un tubo de ensayo con 2 mL de la misma solución, se calienta un minuto a 100° C; se añaden unas gotas de reactivo (fenoltaleína, hidróxido de potasio, agua destilada y polvo de zinc), se esperan unos segundos y se agrega agua oxigenada. En un caso positivo se obtendrá una coloración rosa brillante¹⁴.

El empleo simultáneo de las reacciones de Adler y de Kastle-Meyer permite, en cierta medida, evitar los errores debidos al cobre, níquel, cobalto y al herrumbre; las reacciones testigos, sin agua oxigenada permiten por otra parte, descartar los errores debidos a los oxidantes directos. Las peroxididas vegetales son destruidas calentando de 80 a 90°C, por el ácido acético glicerinado, que respeta a la peroxidasa sanguínea.

➤ *Reacción de la Leuco Verde de Malaquita*⁸, se basa también en una reacción de oxidación y reducción. El prefijo "leuco" se refiere a la forma reducida. Esta forma puede ser oxidada por la acción de las peroxididas para dar la forma oxidada verde. Esta técnica es menos sensible que la de la bencidina. La mancha sospechosa, se levanta con un hisopo humedecido en agua destilada y se le agregan unas gotas del reactivo de leuco verde de malaquita. En caso positivo se observará una coloración verde.

➤ *Técnica del Luminol, para detectar manchas lavadas*. El luminol es el 3-amino-ftalhidracina y el reactivo se prepara de la siguiente manera, en el momento de utilizarse¹⁴:

Solución A. 0.1 g de luminol, 1.0 g carbonato de sodio y cbp de agua destilada para 100 mL.

Solución B. 0.1 g de hidracina hidratada al 95%, 100 partes de agua destilada.

A un mL de la solución A, se añade una gota de agua oxigenada e inmediatamente después, 2 gotas de la solución B; se espera un minuto y la mezcla se rocía sobre la zona sospechosa. En caso positivo, las manchas de sangre producen luminiscencia. Como reactivo no altera la mancha y se puede continuar con la metodología normal.

El luminol es altamente sensitivo y es capaz de detectar sangre aunque haya sido muy diluida. Las reacciones químicas con el grupo hemo de la sangre producen energía en forma de luz por lo cual permite una documentación fotográfica.

4.4.2. REACCIONES DE CONFIRMACIÓN

Se basan en poner de manifiesto algún elemento característico de la sangre. La sangre se identifica con certeza ya sea por los cristales que forman en ciertas condiciones, ciertos derivados de la hemoglobina, ya sea por las propiedades espectrales, muy características de éstos.¹⁷

➤ *Prueba cristalográfica.* Esta técnica se basa en la existencia de ciertos derivados de la hemoglobina que tienen tendencia a cristalizar. Las más importantes son las sales halogenadas de la hematina y el hemocromógeno, que se presentan bajo una forma cristalina específica.

**Cristales de Reichmann.* La hemoglobina, cuando se trata con ácido acético, se separa inmediatamente de las proteínas del grupo prostético. Durante la hidrólisis la globulina se desnaturaliza. La oxidación del hierro del grupo hemo se efectúa más rápidamente en medio ácido que en medio alcalino. Si está presente un halógeno inorgánico como el cloro, se formarán cristales insolubles de cloruro de ferriprotoporfirina o hemina. Si la mancha asienta sobre un tejido, se macera en agua hasta conseguir una solución coloreada al máximo. Colocar la muestra problema en el centro de una laminilla de vidrio y poner encima de ella un cubreobjetos.

Deslizar entre la lámina y laminilla, por capilaridad, unas gotas del reactivo de Teichmann, calentar lentamente y a baja temperatura la laminilla hasta evaporación. Dejar enfriar y observar al microscopio. En caso positivo la observación microscópica de la preparación muestra cristales de forma prismática alargada, de color café oscuro⁸, **FIGURA 6**.

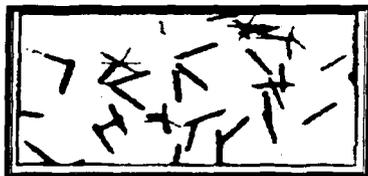


FIGURA 6. Crstales de Teichmann.

Los cristales no se forman si la sangre ha sido calentada a más de 142°C, si ha sido expuesta largo tiempo a la luz solar, si la putrefacción de la sangre data de 4 a 6 meses, si existe hemocromógeno, hematoporfirina, o hematina ácida, tras un contacto prolongado de la sangre con hierro metálico, herrumbre, acetato básico de hierro, cloruro de hierro, acetato de plomo, carbón animal, arena, etc.

Cristales de hemocromógeno.* Sangres que dan reacciones negativas con el reactivo de Teichmann producen cristalizaciones positivas de hemocromógeno. La técnica es análoga a la anterior. Tanto la ferroprotoporfirina como la ferriprotoporfirina tienen la propiedad de combinarse con otros compuestos nitrogenados por medio de la globulina. Tales compuestos incluyen otras proteínas, hidróxido de amonio, cianuro, nicotina y piridina y los productos resultantes se llaman hemocromógenos. Los cristales pueden formarse tanto en medio ácido como alcalino; sin embargo, el reactivo de Takayama **FIGURA 7 es de naturaleza alcalina⁹. El reactivo de cristalización se compone de una base nitrogenada, generalmente la piridina, de un agente hematinizante, la sosa, y de un agente reductor (TAKAYAMA: glucosa)¹⁰.

TESIS CON
FALLA DE CARGEN



FIGURA 7. Cristales de hemocromogeno (Takayama).

El hidróxido de sodio efectúa una hidrólisis alcalina, liberando el grupo prostético de la globina; el hierro del hemo en este momento se encuentra como ión férrico (+3) debido a la formación de la metahemoglobina en el proceso de desecación de la mancha de sangre. La carga (+3) del hierro se neutraliza por el ión OH. Calentando la glucosa (a azúcar reducida), se reduce el ión férrico a ferroso (+2) y la piridina se combina con éste para formar un producto cristalino insoluble: el hemocromógeno o piridinferroprotoporfirina¹⁴.

Se coloca una pequeña cantidad de muestra problema entre un portaobjetos y un cubreobjetos, se desliza por capilaridad unas gotas del reactivo de Takayama entre lámina y laminilla, se calienta la laminilla a baja temperatura durante 30 segundos. Se observa al microscopio. En caso positivo se observarán cristales romboidales de color rosa al derredor de la muestra.

La cristalización está en función del envejecimiento; en sangres muy viejas los cristales sólo aparecen después de horas. Los cristales de hemocromógeno vistos al microscopio son de color naranja, tienen formas arborescentes como las hojas de pino y suelen entrelazarse.

➤ *Prueba espectroscópica.* Tienen por objeto obtener el espectro de absorción de la hemoglobina y de alguno de sus derivados, como prueba de la naturaleza sanguínea de la mancha. La hemoglobina y la mayor parte de sus derivados poseen la propiedad de absorber los rayos luminosos de ciertas partes del espectro. La hemoglobina tiene dos bandas de absorción en la zona de lo visible, cuyos máximos se encuentran, respectivamente a 577 y 540.5 nm,

y la banda de Soret, típica de los derivados porfirínicos, próxima al ultravioleta, para la hemoglobina está a 412 nm¹⁴.

En el diagnóstico de las manchas de sangre no basta con establecer el espectro de la hemoglobina u otro derivado; se exige que la muestra siga la marcha espectral siguiente: hemoglobina-hematina alcalina-hemocromógeno, comprobando en cada paso el espectro del correspondiente derivado. Un sustancia que de este secuencia de espectro se puede identificar, sin causa de error, como sangre.

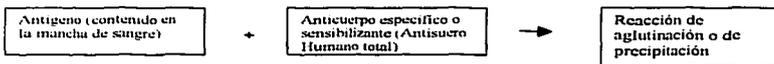
La búsqueda del hemocromógeno es preferida para la prueba espectroscópica a causa de la rapidez de la preparación y sobre todo por la intensidad y limpieza de las dos bandas de absorción⁸.

La identificación espectral de esta sustancia necesita un tiempo preliminar, que tiene por objeto transformar la oxihemoglobina en hematina alcalina; después, por reducción de ésta, se obtiene el hemocromógeno.

Las reacciones de certeza poseen especificidad y sensibilidad, pero pueden resultar negativas en presencia de sangre, en particular cuando la mancha es antigua o cuando se encuentra mezclada, durante algunas semanas, con herrumbre, con potasa o con ciertas tinturas, con tierra.

4.4.3. ORIGEN HUMANO DE LA SANGRE

Los métodos serológicos son las estrellas en este campo del estudio de la sangre^{19,20}.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Prueba de las precipitinas

Las moléculas del anticuerpo (inmunoglobulina) reaccionan con el antígeno (proteína soluble) para formar un precipitado fácilmente visible bajo condiciones de luz apropiadas y a las concentraciones equivalentes de antígeno y de anticuerpo⁹.

Inicialmente se forma un complejo antígeno-anticuerpo soluble; conforme la reacción prosigue, ese complejo comienza a unirse y forma una tupida red compuesta de moléculas de anticuerpo bivalente y moléculas de antígeno polivalente. Esta formación crece rápidamente formando partículas del tamaño suficiente como para ser insolubles y formar un precipitado visible²¹.

Método directo: suero precipitante. La experiencia demuestra que se forma en la sangre del conejo antisuero humano tras inyecciones sucesivas de suero humano. Puesto en presencia, in vitro, de una disolución de sangre humana, este antisuero produce un precipitado blanquecino visible macroscópicamente⁴.

Antisuero H + Suero H = precipitación
(precipitina)

La especificidad es zoológica, pues la precipitación no se produce con la misma proteína procedente de otra especie animal⁹. Por lo tanto la sangre de mono es capaz de resistir al suero antihumano.

Técnica en capilar¹⁴. Se corta un pequeño fragmento de la mancha y se extrae en un tubo de ensayo con unas gotas de solución salina fisiológica; el tiempo requerido dependerá de la naturaleza de la mancha; normalmente se requieren de 1 a 2 minutos. Si la solución está turbia es conveniente centrifugar y utilizar el sobrenadante.

Dos gotas del extracto diluido se colocan en un tubo capilar (de tal forma que el líquido humedezca la pared del tubo por lo cual es preferible hacer esto con el capilar inclinado). Una cantidad igual de antisuero se absorbe en el mismo capilar de manera que quede abajo del extracto de la muestra. El tubo se fija perpendicularmente sobre un soporte.

La observación se hace con luz indirecta y sobre fondo oscuro, la aparición de un anillo de precipitación en la interfase de los dos líquidos indica reacción positiva (antes de los 20 minutos).

Técnica de inmunoelectroforesis

Esta técnica inmunquímica se basa en las reacciones que se efectúan entre un antígeno que emigra anódicamente y un anticuerpo que emigra hacia el cátodo durante una electroforesis*. Sobre una placa de agarosa, se hacen horadaciones en pares; el antígeno (seroalbúminas y α y β globulinas) se coloca en una de ellas y el anticuerpo (gamma globulinas) en la otra; una vez terminada la electroforesis aparecen bandas visibles de precipitación entre las perforaciones pares de los materiales proteínicos específicos.

Preparación de las placas. Sobre una superficie uniforme, colocar los portaobjetos y con la solución de gel, lo suficientemente caliente para facilitar su aplicación, dejar caer con una pipeta y partiendo del centro de la placa 2.5 mL de gel, teniendo cuidado de que su distribución en la placa sea uniforme. Una vez solidificado el gel, acomodar las placas en una caja de plástico en cuya base se ha colocado una gasa húmeda para evitar la desecación del gel; conservarlas en refrigeración un mínimo de una hora hasta el momento de su uso.

Procedimiento. Se coloca en uno de los compartimientos laterales de la cámara de electroforesis 100 mL de buffer pH 8.6, se colocan los puentes de papel filtro u otro material absorbente adecuado en los compartimientos laterales y se prepara el extracto de la muestra(s) problema, suspendiéndola en buffer pH 8.2 un mínimo de 5 minutos. Se colocan las muestras problema, antisuero y testigo en cada horadación, **FIGURA 8.**



FIGURA 8. Colocación de la muestra problema, antisuero y testigos en la cámara de electroforesis.

Una vez que se aplicaron las muestras contra su antisuero específico, se coloca la placa en la cámara de electroforesis, poniendo especial atención en que la polaridad sea la correcta. Trabajar a 150v durante 45 minutos¹⁴.

4.4.4. ORIGEN INDIVIDUAL DE LA SANGRE

Una vez comprobado que la sangre es humana, se debe intentar establecer el diagnóstico individual que, generalmente no individualiza, sino que agrupa dentro de una clase. La determinación del grupo sanguíneo en la práctica forense aporta a los tribunales, en no pocas ocasiones, elementos de prueba muy importantes tanto para señalar si una mancha de sangre recogida del lugar de los hechos puede provenir de la víctima o del victimario; o con mayor certeza indicar que no puede haber analogía entre la sangre encontrada y la de la víctima o la de su presunto agresor¹⁵.

En 1901, LANDSTEINER demostró la existencia de dos propiedades aglutinógenas A y B, existentes en los glóbulos rojos, a las cuales corresponden las aglutininas específicas, α o anti-A y β o anti-B, contenidas en el plasma: estas últimas tienen pues, el poder de aglutinar los hematíes A o B, pero no tienen acción sobre los hematíes O³.

La isohemaglutinación es considerada como una reacción de inmunidad destinada a la protección de la raza. Los aglutinógenos son comparados a los antígenos y las aglutininas a los anticuerpos²¹.

En la práctica forense se trabaja con manchas o costras, en las que los hematíes están destruidos y no es posible visualizar la reacción antígeno-anticuerpo por el fenómeno de la aglutinación; sin embargo, los antígenos del sistema ABO no se desnaturalizan tan rápidamente por la sequedad y en este sistema sobreviven durante algún tiempo y conservan la capacidad de combinarse con anticuerpos específicos¹⁴.

La formación de estos complejos antígeno-anticuerpo es la base de todos los métodos empleados en la detección de antígenos en el estroma de las células rojas en manchas de sangre seca²². En consecuencia la reacción específica aglutinógeno-aglutinina hay que evidenciarla por un método indirecto: el de absorción-elución.

Absorción elución. Determinación del grupo sanguíneo en manchas de sangre seca⁴

La técnica de absorción-elución⁽⁵⁾ tiene como fundamento un primer proceso de absorción específica entre la mancha problema y su anticuerpo homólogo; después de que la absorción es completa, el excedente de anticuerpo se elimina por medio de lavados con solución salina fría. El complejo antígeno-anticuerpo se disocia por calentamiento, generalmente a 56°C, el anticuerpo eluido (las aglutininas liberadas serán las que estaban unidas de modo específico; su identificación establece el diagnóstico del grupo de la mancha problema) se pone en contacto con eritrocitos lavados de propiedades antigénicas conocidas; finalmente la aglutinación indica la presencia de un antígeno de la misma especificidad que el de las células usadas como testigo conocido.

Procedimiento. Se cortan cuatro fragmentos de la tela impregnada con sangre problema (de 3 mm²), cuando la mancha problema no se encuentre sobre tela, absorberla con solución salina en pequeños trozos de tela de algodón de color blanco, sin apresto y esterilizada. Colocar cada recorte en los tubos necesarios y estos se colocan en una misma columna de una gradilla y esta columna se marca como *problema*. De esta misma manera se prepara otra serie de tubos en cuyo interior se colocarán fragmentos de tela manchados con sangre de grupo conocido: A, B, AB y O, marcando esta columna como *Testigo*. Se coloca otra serie de tubos que contengan fragmentos de una parte de tela en estudio que no se encuentre maculada con sangre y se pondrán en una tercera columna designada *control*, FIGURA 9.

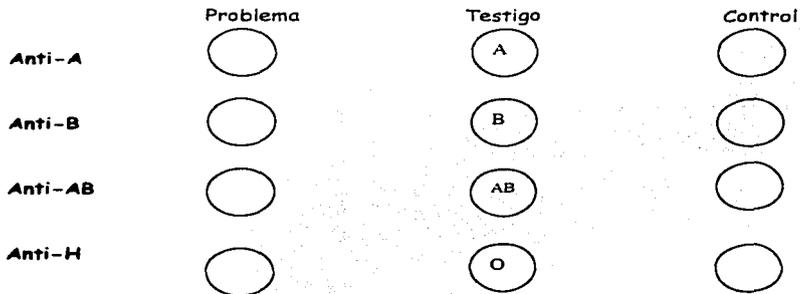


FIGURA 9. Esta figura muestra como se marcarán las hileras en la gradilla.

Se fijan las manchas de sangre impregnadas en la tela, cubriéndolas con metanol cuando menos durante 15 minutos. Después de ese tiempo se elimina totalmente y se agrega a cada tubo de la hilera A dos gotas de suero anti-A; a los de la hilera B, suero anti-B; a los de la hilera AB, suero anti-AB y a los de la hilera H, lectina anti-H. Se deja en refrigeración toda la noche a 4°C, posteriormente se lava con solución salina fría 6 veces o hasta obtener una solución clara e incolora; se añade a cada tubo dos gotas de solución salina a temperatura ambiente y se coloca la gradilla en el baño maría a 56°C por 13 minutos. Se sacan cuidadosamente los trozos de tela con aplicador de madera, diferente para cada tubo y se agrega una gota de glóbulos lavados al 2%:

Del grupo A a los tubos de la hilera A
del grupo B a los tubos de la hilera B
del grupo AB a los tubos de la hilera AB
del grupo O a los tubos de la hilera H

Se centrifuga durante 30 segundos a 3400 rpm y se observa si existe o no aglutinación. Si hay aglutinación en el tubo problema de la hilera anti-A, el grupo corresponderá a A; puede aglutinar ligeramente en el tubo problema anti-AB. Si hay aglutinación en el tubo problema de la hilera anti-B, el grupo corresponderá al B; también puede aglutinar ligeramente en el tubo problema de anti-AB.

Si hay aglutinación en los tubos problema anti-A, anti-B y anti-AB, pero no en el de la hilera anti-H, el grupo de la muestra analizada será AB. Si no hay aglutinación en los tubos problema de las tres primeras hileras pero sí en el de la hilera anti-H, el grupo será O.

Absorción-elución. Determinación de los factores Rh en manchas de sangre seca*

Para efectuar estas determinaciones es indispensable contar con una muestra de sangre fresca del grupo O que contenga los cinco antígenos del sistema Rh (R₁ R₂) y a partir de esta muestra de sangre, se obtienen las células testigo.

Las muestras se preparan como sigue:

- a) diluir los sueros anti-D y anti-C, usando una gota de suero y 9 gotas de solución salina (dilución 1:10).
- b) Los sueros anti-C, anti-E y anti-e se diluirán en la proporción de 1:2 (una gota de suero y una gota de solución salina)
- c) La albúmina bovina se diluirá al 1.5% con solución salina.

Se cortan los fragmentos de tela manchada tanto con sangre problema como con sangre testigo (3x3 mm para los grupos C y D y de 4x4 para los grupos C, E y e.

Procedimiento. Colocar los fragmentos de tela en sus respectivos tubos y añadir una gota del diluyente específico en cada uno de los tubos correspondientes, a la dilución indicada; se tapan bien los tubos y se coloca la gradilla dentro de la incubadora a 37°C durante toda la noche, FIGURA 10. Posteriormente se lavan con solución salina durante dos horas, cambiando seis veces esa solución con intervalos de veinte minutos, al quitar la última solución salina se agregan tres gotas de albúmina diluida a cada tubo, para la elución. Se incuba durante 40 minutos a 60°C sin tapar, se saca la gradilla y se retiran rápidamente las piezas de tela, con aplicadores de madera; se agregan las células testigo H₁ R₂ tratadas con bromelina y se tapan los tubos para incubarlos a 37°C durante hora y media. Se centrifugan durante un minuto y se lee macroscópicamente y se pasa el contenido a una laminilla que contenga una gota de solución salina, mezclar y leer al microscopio.

	C	c	D	E	e
Testigo Positivo	○	○	○	○	○
Problema	○	○	○	○	○
Testigo negativo	○	○	○	○	○

FIGURA 10. Se muestra como deben de trabajarse los tubos para el manejo del problema, testigo positivo y testigo negativo (filas) al adicionarles los antisucros (columnas).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Los resultados conducen a una identificación de grupo, no individual, que tiene sobre todo un valor judicial cuando permite excluir una culpabilidad.

Absorción-inhibición. Determinación de grupo del sistema ABO en manchas de sangre*

El material antigéno se coloca en contacto con su anticuerpo homólogo a fin de efectuar su absorción específica. El anticuerpo en el sobrenadante, se observa con eritrocitos de propiedades antigénicas conocidas; cabe señalar la conveniencia de trabajar con testigos de grupo conocido.

Se prepara una solución de fosfato ácido de sodio Na_2HPO_4 1/15 molar (9.47 gramos por litro) y una solución de KH_2PO_4 1/15 molar (9.08 gramos por litro). Se preparan los sueros: Anti-A: Se diluyen 3.5 mL. del suero con 450 mL. del buffer pH 7.2. Anti-B: Diluir 1.0 mL. del suero con 450 mL. del buffer. Anti-H: Se utiliza sin diluir.

Las células conocidas se preparan lavando tres veces con el buffer salino pH 7.2 y haciendo una suspensión al 2% con eritrocitos conocidos de los grupos O, A₂ y B. Se cortan fragmentos de tela impregnada de muestra problema (3 mm²) y en hileras de tubos: anti-A, anti-B y anti-H y se ponen tres gotas de cada uno de los sueros en sus respectivas hileras, **FIGURA 11.**

	Problema	Testigo	Control
Anti-A	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Anti-B	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Anti-H	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

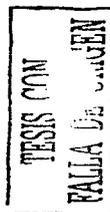
FIGURA. 11. Se indica el orden de adición de los antisueros (filas) al problema, testigo y control (columnas).

Los resultados se interpretan como sigue:

1. Si se observa aglutinación con Anti-A y con Anti-B, pero no con Anti-H, el grupo buscado será O.
2. Si hay aglutinación en los tubos con Anti-B y con Anti-H, pero no en el de Anti-A, el grupo será A₁.
3. Si no existe aglutinación con Anti-A ni con Anti-B, pero sí con Anti-H, el grupo es AB.
4. Si se obtiene aglutinación con Anti-B, pero no la hay con Anti-A ni con Anti-H, el grupo corresponderá al A₂.
5. Si hay aglutinación con anti-A y con anti-H, pero no con anti-B, el grupo será B.

Ejemplo:

	Testigo Negativo	O	A	B	AB
Anti-A	○	+	○	+	○
Anti-B	○	+	+	○	○
Anti-H	○	○	+	+	+



4.4.5. NATURALEZA DE LA SANGRE DERRAMADA

La sangre procedente de una herida puede contener elementos indicativos de su origen: cabellos, pelos, células superficiales de la epidermis, grasa²³.

Sangre menstrual. Contiene epitelio endometrial y vaginal, bacterias, protozoarios (tricomonas vaginales), hongos y moco.

Sangre genital en violación. Orienta su ubicación puede acompañarse de vello pubiano, semen y células de la vulva.

Sangre genital de parto. Puede contener unto sebáceo, vello fetal, meconio y restos placentarios.

Hemoptisis: Suele presentarse en el escenario en forma de salpicaduras.

Hematemesis. La sangre puede estar mezclada con restos alimenticios y células de mucosa digestiva.

Melena: La sangre suele contener restos de materia fecal y hematina ácida.

Hemorragia nasal: Puede contener células nasales epiteliales con cilios vibrátiles¹³.

4.4.6. ANTIGÜEDAD DE LAS MANCHAS DE SANGRE

Numerosos factores (calor, luz, humedad, putrefacción, soporte, etc.) influyen sobre las variaciones del tinte de las manchas²⁴; lo mismo sucede con las modificaciones químicas y la sensibilidad a los reactivos.

Los cambios de tinte de las manchas gruesas son más lentos, pero la evolución es la misma. Modificaciones de solubilidad se observan con diversos disolventes: con agua destilada, las manchas de sangre no son casi solubles tras 6 meses ; entre 1 y 6 meses, el HCl normal disuelve el pigmento dejado por el agua destilada; entre 6 meses y 1 año, el disolvente del pigmento restante es KOH al 3%.

Actualmente la edad de una mancha de sangre¹ ha sido establecida por Rajamannar mediante inmunolectroforesis:

De 10 a 15 días. Presencia de gammaglobulina β_2 M, β_2 B, β_2 C y β_1 , y ausencia de otras proteínas séricas.

De 30 a 45 días. β_2 M, y ausencia de globulina.

De 60 días. Sólo hay gammaglobulina, β_2 y β_1 globulina.

De 150 días. Sólo hay gammaglobulina y β_1 globulina.

5.1. IDENTIFICACIÓN DE SEMEN

5.1.1. MANCHAS DE SEMEN

La importancia de las manchas de espermatozoos es considerable, porque su presencia en muchos casos tiene significado muy preciso y constituye una prueba acusadora irrefutable ya que entre las huellas que pueden resultar de la comisión de un delito contra la libertad sexual, figuran este tipo de manchas².

El líquido espermático se puede presentar al investigador en tres formas distintas: como mancha, impregnando un tejido; como fluido, mezclado con otros fluidos corporales, como la secreción vaginal, o como semen o líquido espermático, cuando se obtiene directamente del sujeto para una investigación de esterilidad. En el campo del Derecho Penal está relacionado con los delitos contra la libertad sexual²⁹.

Su color y aspecto es lechoso algo opalescente, con filamentos vítreos y granos semejantes a los de tapioca. La opalescencia es proporcional a la concentración de espermatozoos. Las manchas de semen pueden encontrarse en los lechos, en objetos situados a poca altura, sobre el suelo, en alfombras o tapetes, en las sillas, en los divanes, sobre los vestidos, el propio sujeto o la víctima, en pañuelos y papeles que pudieran haber servido para limpiarse los órganos genitales después del acto sexual, en los cuartos de baño.

El plasma seminal está integrado por sustancias bioquímicas, antigénicas, enzimáticas, lípidos y minerales. Según Villanueva Cañadas, la determinación cualitativa y cuantitativa de estos compuestos identifica el espermatozoos.

Su aspecto depende del objeto sobre el que se encuentre, del modo como se haya impregnado y según sea su antigüedad. Sobre las telas absorbentes toma el aspecto clásico de cartas geográficas, deja manchas grises, de contornos netos, irregulares que acartonan la tela. En las telas no impermeables, aparecen como pinceladas de barniz. Sobre los pelos, constituye un magma grisáceo que los aglutina. Suponiéndose lucha entre agresores y víctimas, las manchas generalmente son pequeñas, angulosas, borrosas y deformadas. Sobre telas no absorbentes el espermatozoos forma escamas o cadenas

brillantes. Sobre la piel forma películas blanquecinas, semejantes a las del colodión. Lo mismo sucede en la madera. Al tacto, el esperma vuelve los tejidos rígidos y duros como almidonados*.

Los signos de orientación derivan del aspecto macroscópico de las manchas y de su fluorescencia bajo la luz de Wood. Los rayos ultravioletas filtrados (luz de Wood) excitan la fluorescencia del esperma*, que adquiere una coloración blanco azulada muy apreciable en cámara oscura; esta fluorescencia, debida a la espermina, se vuelve más viva y amarilla en las manchas antiguas. Esta propiedad no es específica, pues ciertos líquidos desecados (orina, moco nasal o vaginal) tienen una fluorescencia idéntica o parecida.

Es muy difícil encontrarlo en estado líquido ya que tiende a secarse rápidamente, y haría falta llegar a la escena del crimen poco tiempo después de que ocurriera la eyaculación. Cuando se ha secado, dependiendo de la cantidad y concentración de espermatozoides, suele aparecer como una capa blanquecina que puede ser perfectamente identificada con la luz de Wood, ya que emite una fluorescencia característica. Cuando se mezcla con otros líquidos, especialmente agua, los espermatozoides tienden a precipitar en grupos de color blanco (que se pueden tinter del color del líquido), permaneciendo en este estado varias horas.

La luz de Wood debe usarse obligatoriamente en todos los delitos contra la libertad sexual y en aquellos en que se sospeche algún componente sexual, aunque algunos cuerpos de policía de otros países lo utilizan sistemáticamente por su sensibilidad en detectar manchas pequeñas (de sangre, semen, orina) invisibles al ojo y a la iluminación normal.

5.2. RECOLECCION DE MATERIAL

La metódica para recoger el material de examen será diferente según el problema planteado. Cuando se trata de una investigación sobre la víctima de una agresión sexual, según que el acceso carnal sea por vía vaginal, rectal o bucal, se procederá a la búsqueda del líquido espermático: con un escobillón o una torunda de gasa para la toma vaginal y rectal. En la boca se hará una limpieza en la parte posterior de los incisivos centrales.

Una parte del material se reservará sin manipular para la investigación de ADN (PCR), otra parte, para la investigación de espermios y otra para los componentes bioquímicos¹⁴.

El tiempo poscoito en el que se pueden encontrar espermatozoides en la cavidad vaginal varía de unos autores a otros. SUMMER (1985) dice haberlos demostrado después de algunos días. RUPT (1969) encuentra espermios en vagina durante un período de 14 horas. GLAISTER ha detectado espermatozoides completos hasta después de 85 horas. En la cavidad rectal se pueden encontrar hasta 24 horas después y en la boca hasta 8 horas¹⁵.

➤ Indicios en la cavidad vaginal¹⁷. De modo general, hay que recoger y guardar en bolsas independientes toda la ropa de la víctima, especialmente las prendas interiores. Se debe proceder inmediatamente a un análisis ginecológico detallado, tomando con muchísima precaución muestras de los genitales externos primero y posteriormente de la cavidad vaginal, siempre con hisopos estériles.

➤ Indicios en la cavidad oral o bucal. La víctima suele escupir y enjuagarse inmediatamente la boca, por lo que hay que preguntarle acerca del lugar donde hizo tales maniobras, por si fuera aún posible encontrar restos de semen. Hay que proceder a realizar (antes que cualquier otra maniobra) una toma de muestras con hisopos estériles para friccionar minuciosamente el interior de la boca (zona interna de los carrillos o mejillas), y posteriormente se deben de limpiar los dientes (especialmente la cara interna de los incisivos superiores) y los espacios interdientales, por sus caras externa e interna, con hisopos finos o con palillos de dientes estériles.

Finalmente, se deben limpiar, con una gasa humedecida en agua, las comisuras de los labios y la parte externa de la cara, así como las manos y antebrazos, con las que se pudiere haber limpiado la víctima, ya que pueden quedar manchas pequeñas que proceden del acto instintivo de limpiarse la boca tras escupir (recordemos que la alta concentración de espermatozoides en el semen hace que cualquier indicio, por pequeño que parezca pueda ser útil). Por esta misma razón, habrán de recogerse pañuelos y prendas de vestir con mangas.

➤ **Indicios en la cavidad anal.** En los casos de supuesta violación por acceso carnal en la cavidad anal, las pautas analíticas son similares a las usadas en los supuestos de violación vaginal. Tras una valoración clínica de la víctima, procede realizar limpiado con hisopos o gasas humedecidas y realizar una aspiración o un lavado con un enema que tenga poco agua, para pasar a recoger el líquido. Igualmente, se pueden hacer extensiones en «portas» microscópicas para intentar visualizar espermatozoides²⁹.

5.3. DIAGNÓSTICO GENÉRICO

El examen genérico se orientará en una doble vertiente³⁰: La investigación de espermatozoides y la de espermina y colina, a las que se añade la investigación de la fosfatasa y los métodos inmunológicos.

5.3.1. EXAMEN MICROSCÓPICO

Permite visualizar, en algunas ocasiones, la presencia de espermatozoides; dato que confirma, sin duda alguna, que la mancha es esperma. La investigación de espermios ha sido denominada *prueba de certeza*, ya que es la prueba reina del diagnóstico genérico. Puesto de manifiesto un espermatozoide completo en la mancha, esta queda identificada en cuanto a su naturaleza³¹.

Si se investiga en el líquido, se coloca en un portaobjeto, se deseca, se fija, se colorea con azul de metileno. Los espermatozoides pueden ser teñidos de tono violeta con azul de metileno y de rojo brillante con eosina, eritrosina y alizarina roja. Debido a que la estructura de los espermatozoides varía de una especie animal a otra, es posible, determinar su origen³².

5.3.2. INVESTIGACIÓN DE ESPERMINA Y COLINA

El hecho de no descubrir un espermatozoide completo no debe llevar a concluir que la mancha no es de esperma. La investigación de los espermios en una mancha de esperma puede ser negativa debida a azoospermia³³.

LEído CON
FALLA DE ORIGEN

Las reacciones microcristalográficas de Florence y Barberio basadas respectivamente, en la identificación de cristales de colina y de espermina, actualmente ya no son muy usadas, ya que solo permiten formular juicios de probabilidad, o sea, que su valor es relativo.

Se han desarrollado pruebas complementarias, que realizadas con metodología idónea, poseen una considerable importancia. Actualmente se utilizan técnicas más confiables para la identificación de colina y espermina, (5) como son las electroforéticas y las enzimáticas.

➤ *Técnicas electroforéticas*⁴: Tienen sobre las pruebas cristalográficas la ventaja de ser más confiables, el simple método electroforético puede poner en evidencia la presencia de espermina y colina. El tejido manchado que resultó fluorescente a la luz de Wood se macera en HCl 0.1 N, durante 12 horas. Se centrifuga, manteniendo el tejido fuera del líquido por medio de un hilo que se sujeta al borde del tubo con un papel adhesivo.

En una hoja de papel Schleicher-Schull, se traza una línea a 4 cm del borde inferior. Sobre esta línea se marcan tres puntos, distantes entre sí. En uno se colocará la mancha problema; en otro un estándar de colina, y en el tercero, un estándar de espermina. Se hace el desarrollo electroforético, usando un tampón de piridina /ácido acético/agua, de pH 3.9 a un voltaje de 350 V durante una hora y 50 min.

Concluido el desarrollo se seca el papel en estufa a 80°C por 30 min. La colina aparece como una mancha de color rojo ciclamen, que se sitúa aproximadamente a 17 cm del punto de partida.

La espermina aparece como una mancha de color calabaza, que se sitúa a unos 21 cm de la línea de base.

➤ *Técnica enzimática*: Son técnicas complejas que aún no han entrado en la práctica.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

5.3.3. INVESTIGACIÓN DE LA FOSFATASA ÁCIDA PROSTÁTICA

El principio del método^a consiste en incubar un sustrato fosforado con la mancha o un extracto de ésta. La fosfatasa presente desdoblará el compuesto en fósforo y el correspondiente compuesto orgánico. Como índice de la reacción puede medirse el fósforo inorgánico liberado o el compuesto orgánico. Se han propuesto diversos sustratos para la reacción: fenilfosfato; *p*-nitrofenilfosfato y α -naftilfosfato. Actualmente se utilizan los kits comerciales sustituyendo el suero por un macerado de mancha con un tampón de citrato pH 4.8. El valor de esta prueba radica en la alta concentración de fosfatasa ácida existente en el tejido en que radique una mancha de esperma.

5.3.4. METODOS INMUNOLÓGICOS

Es ya antiguo el conocimiento de que el líquido espermático posee proteínas específicas (Landsteiner en 1899). Weil y cols (1956-1962) demostraron la presencia en los espermatozoides de un antígeno, denominado "antígeno de revestimiento" (spermatozoa coating antigen, SCA).

Especificidad antigénica de los espermatozoides. El SCA procede de las vesículas seminales, de modo que los espermatozoides obtenidos directamente del testículo no lo poseen. Es un potente antígeno que produce respuesta inmunitaria en el animal y en la mujer en las primeras relaciones sexuales. Se puede poner de manifiesto por el test de la hemaglutinación pasiva, donde los hematíes tratados con formaldehído son sensibilizados por anticuerpos anti-SCA. Así, aglutinan en presencia del correspondiente antígeno.

Especificidad antigénica de órgano del plasma seminal. Cuando se inyecta esperma humano total a un conejo, se obtiene una respuesta de anticuerpos que se pueden cifrar en cinco u ocho bandas diferenciables por inmunoelectroforesis. De esos antígenos de menos cuatro son comunes con el suero humano^a.

Otra prueba que permite emitir juicios de certeza, es la presencia de la proteína P30 considerada un marcador específico de semen; es producida por la próstata y secretada al plasma seminal²⁹, identificada mediante la técnica de Ouchterlony o inmunoelectroforesis.

La detección del Antígeno Prostático Específico (P30 o PAS) por el método de ELISA es altamente sensitivo y específico en la identificación de semen (menos de 1 ng/mL), además de ser útil en los casos en que el individuo es azoospermico²⁰.

5.4. DIAGNÓSTICO ESPECÍFICO.

En lo referente a saber si una mancha de semen es humano o de otra especie animal, se establece a través de las técnicas inmunológicas, por lo que se hace simultáneamente con el diagnóstico genérico⁶.

5.5. DIAGNÓSTICO INDIVIDUAL

El *método de los grupos específicos* (isoaglutinaciones), se funda en que las propiedades aglutinantes grupo-específicas no existen solamente en la sangre, sino también en la mayor parte de los líquidos orgánicos, y sobre todo en el esperma (tanto en los espermatozoides como en el líquido seminal)²¹.

Se han propuesto varios métodos:

La prueba de *Landsteiner y Richter* consiste en poner en contacto una gota de maceración de la mancha sospechosa, una de suspensión globular fresca del autor del atentado. Si la reacción es positiva, se procede al estudio del grupo sanguíneo de este individuo. Puede no tener ningún resultado en particular si el grupo es AB (grupo desprovisto de aglutininas)

Si la reacción es negativa, se pone en presencia de la maceración de la mancha una suspensión globular de cada tipo sanguíneo y se observan los resultados. Sin embargo, ciertos fenómenos fisico-químicos (sol, frío, putrefacción, acción de ácidos, etc.), destruyen la aglutinina, que es más débil que el aglutinógeno.

Procedimiento. Se cortan fragmentos de tela de 1x1 mm y se impregnan con la muestra problema y con los testigos. Cada uno de los fragmentos se coloca en los tubos respectivos como se muestra en la **FIGURA 12**.

TEST CON
FALLA DE ORIGEN

	Problema	Control	Testigo
Anti-A	○	⊙ A	○
Anti-B	○	⊙ B	○
Anti-H	○	⊙ O	○

FIGURA 12. Se indica la manera en que se trabajan los antisueros (filas) con el problema, el control y el testigo (filas).

Se colocan tres gotas de anti-A; tres gotas de anti-B en su hilera y tres gotas de anti-H, se agitan vigorosamente y se deja que se efectúe la absorción durante toda la noche en refrigeración a 4°C para después centrifugar y remover el sobrenadante y colocarlo en una lámina hemoclasificadora.

Se agrega una gota de suspensión de eritrocitos al 2% de A en cada uno de los tubos de la hilera anti-A; una gota de células B en la hilera de anti-B y del grupo O en la hilera de anti-H; se agita mecánicamente durante 10 a 12 minutos y se esperan otros 9 minutos más. Se lee al microscopio.

1. Si se observa aglutinación con anti-A y con anti-B, pero no con anti-H, el grupo será O.
2. Si hay aglutinación en los tubos con anti-B y con anti-H y no con anti-A, el grupo será A.
3. Si hay aglutinación con anti-A y con anti-H pero no con anti-B, el grupo será anti-B
4. Si no existe aglutinación con anti-A ni con anti-B, pero sí con anti-H, el grupo será AB¹⁴.

ANÁLISIS CON
FALLA DE ORIGEN

6. IDENTIFICACIÓN DE SALIVA

6.1. MANCHAS DE SALIVA

Hoy tienen gran interés legal, pues se trata de un vestigio que puede encontrarse relacionado con delitos muy variados y en circunstancias múltiples; en los delitos contra la libertad sexual en forma de restos dejados por los besos o mordiscos.

Las manchas de saliva se pueden encontrar en las boquillas de cigarro y puro, en las pipas, pañuelos, en los vasos o en las tazas; también en las estampillas postales, en los sobres o en los chicles. Sobre las telas presentan un color amarillento, blanco o gris. Sus contornos son imprecisos e irregulares y almidonan ligeramente el paño. Su búsqueda se puede realizar con luz ultravioleta, debido a que poseen cierta aunque débil fluorescencia de mucina. Sin embargo, no hay que descartar cierta fluorescencia propia del soporte¹⁹.

6.2. DIAGNÓSTICO GENÉRICO

Este diagnóstico² se lleva a cabo investigando la presencia de amilasa, albúminas, tiocianatos, nitritos, fosfatasa alcalina, así como de células pavimentosas y ciliadas de las vías respiratorias.

En un portaobjetos se hace una placa de gel agarosa-almidón, cuando está solidificada, se hacen tres perforaciones con un capilar a lo largo de la placa, FIGURA 13. En las perforaciones se van a colocar: saliva, problema y agua respectivamente, para tener en el primer poso el testigo positivo, en el centro el problema y del lado derecho el testigo negativo

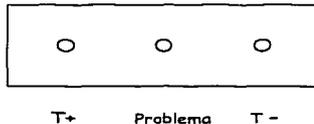


FIGURA 13. Placa de gel agarosa-almidón para realizar la prueba de amilasa

Se deja la placa por 30 min y posteriormente se le agregan 2 gotas de lugol. Si aparece un halo luminoso se interpreta como positivo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

6.3. DIAGNÓSTICO ESPECÍFICO Y DETERMINACIÓN DEL SEXO

El diagnóstico específico, consiste en establecer si la saliva es humana, puede realizarse a través de las reacciones de precipitación. Por cuanto se refiere a la determinación del sexo, el epitelio bucal resulta idóneo para la tinción de masas de Barr y corpúsculos "Y" fluorescentes¹⁰.

6.4. DIAGNÓSTICO INDIVIDUAL

Dicho diagnóstico se hace investigando, en el caso de manchas secas y de que las personas sean secretoras, aglutinógenos del sistema ABO por el método de absorción-inhibición, lo que permite la determinación del secretor de grupo sanguíneo¹⁰. No obstante, con tales determinaciones solamente podemos excluir sospechosos. La hipótesis de partida es que en la saliva existen células de descamación de la boca, de las que se podrán extraer ADN, mediante técnicas genéticas, a fin de lograr una identificación segura y directa.

CONCLUSIONES

Las técnicas de las pruebas reportadas en este trabajo, son las más utilizadas actualmente por la sencillez y la relativa rapidez y economía que representan. Todas ellas constituyen la base en la investigación de cualquier evidencia biológica de sangre, semen y saliva, con la limitante de que los resultados de estas pruebas únicamente permiten excluir o incluir a un presunto (s) responsable (s) ya que conducen a una identificación de grupo, no individual; por ejemplo si el sospechoso y la víctima son del grupo sanguíneo O y los indicios biológicos encontrados indican la existencia de un grupo sanguíneo A. Estos resultados aumentan su importancia cuando no hay un presunto (s) responsable (s) ya que es a través de estas pruebas que la investigación comienza a tener una dirección.

Como ya se mencionó estas pruebas son la base de la investigación, la cual se ve completada con los resultados de pruebas de otras áreas forenses que estén participando también en la investigación; como puede ser balística, dactiloscopia, medicina forense, etc., y por supuesto los resultados de genética que son el retrato biológico del delincuente.

En base a lo investigado, considero importante realizar sólo una prueba de orientación o ninguna en caso de que la cantidad de evidencia sea mínima e ir directamente a las pruebas de confirmación. Las siguientes son las pruebas que se sugieren para indicios de sangre, semen y saliva.

SANGRE

- De orientación. En manchas secas agregar una gota de agua oxigenada. En caso de manchas lavadas rociar luminol.
- De confirmación. Cristales de Takayama.
- Origen humano de la sangre. Prueba de las Precipitinas y Electroforesis.
- Origen individual de la sangre. Técnica de absorción-Elución.

SEMEN

- Diagnóstico genérico. Examen microscópico y Electroforesis o ELISA para P30.
- Diagnóstico Específico. Se establece simultáneamente con Electroforesis o ELISA.
- Diagnóstico individual. Prueba de Landsteiner y Richter

SALIVA

- Diagnóstico genérico. Prueba de la amilasa
- Diagnóstico específico. Prueba de las Precipitinas.
- Diagnóstico individual. Técnica de Absorción-inhibición.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

BIBLIOGRAFÍA

1. Vargas Alvarado Eduardo. Medicina Forense y Deontología Médica. Editorial Trillas. México 1991.
2. Moreno González Rafael. Los indicios biológicos del delito. INACIPE. México 2000.
3. McKenzie Shirlyn B. Hematología Clínica. Editorial Manual Moderno. México 1991.
4. Stites Daniel P. Inmunología Básica y Clínica. Editorial Manual Moderno. México 1996.
5. Margni Ricardo A. Inmunología e Inmunoquímica. 5ª edición. Editorial Panamericana. Argentina 1996
6. Ríos Olivera Georgina E. Manual de Prácticas para el Laboratorio de Análisis Bioquímico Clínico I. FES ZARAGOZA.
7. Sosa Juventino Montiel. Manual de Criminalística. Tomo 1, Ediciones Ciencia y Tecnología, México 1987.
8. Gisbert Calabuig Juan A. Medicina Legal y Toxicología. 5ª edición. Editorial Masson S.A. España 1998.
9. Ganong William F. Fisiología Médica. 18a edición. Editorial Manual Moderno. México 2002.
10. Moreno González Rafael. Compendio de Criminalística. 3ª edición. Editorial Porrúa. México 2000.
11. Caldwell Jonathan P. et al: Extension of the Color Suite Available for Chemical Enhancement of Fingerprints in Blood. J. Forensic Sci 2002;47(2):332-340

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN I**

12. Budowle Bruce et al: The Presumptive Reagent Fluorescein for Detection of Dilute Bloodstains and Subsequent STR Typing of Recovered DNA. *J. Forensic Sci* 2000;45(5):1090-1092
13. Vargas Alvarado Eduardo. *Medicina Legal*. Editorial Trillas, México 1999.
14. Franco de Ambriz Martha. *Hematología Forense y otras Técnicas Serológicas*. 3ª edición. Editorial Porrúa, México 1999.
15. Knight Bernard. *Medicina Forense*. 2ª edición. Editorial Manual Moderno. México 1999.
16. Mosher Stewart: *Luminol Photography*. *CSDIAI* 1994;(94)7:6-9
17. Rojas Neiro. *Medicina Legal*. 12ª edición. Editorial El Ateneo. Argentina 1982.
18. Hatch, A. L.: *A Modified Reagent for the Confirmation of Blood*. *J. Forensic Sci* 1993;38(6):1502-1506
19. Hochmeister MN et al: *Validation of an Immunochromatographic 1-Step Test for the Forensic Identification of Human Blood*. *J. Forensic Sci* 1999;44(3):597-602.
20. Matsuzawa S. et al: *A Rapid Dot-Blot Method for Species Identification of Bloodstains*. *J. Forensic Sci* 1993;38(2): 448-454
21. Roitt Ivan M. *Inmunología*. 7ª edición. Editorial Pamericana. Argentina 1994.
22. Bunai Yasuo et al: *Blood Grouping of Mixed Bloodstains Using Immunocytochemical Methods*. *J. Forensic Sci* 1999;44(1):100-104
23. C. Simonin. *Medicina Legal Judicial*. 2ª edición. Editorial JIMS, España 1973.
24. Uribe Cualla Guillermo. *Medicina Legal, Toxicología Y Siquiatría Forense*. 10ª edición. Editorial Temis, Colombia 1977.

ISIS CON
FALLA DE ORIGEN

25. Lorente Acosta J. A. & Lorente Acosta M. El ADN en la Identificación Criminal y en la Paternidad Biológica. Editorial Comares. España 1995.
26. Kobus Hilton et al : Improving the Effectivenesses of Fluorescence for the Detection of Semen Stains on Fabrics. J Forensic Sci 2002;47(4):819-823
27. Collins Kim et al: Identification of Sperm and Non-Sperm Male Cells in Cervicovaginal Smears Using Fluorescence In Situ Hybridization: Applications in Alleged Sexual Assault Cases. J. Forensic Sci 1994;39(6):1347-1355
28. Hochmeister MN et al: Evaluation of Prostate-Specific Antigen(psa) Membrane Test Assays for the Forensic Identification of Seminal Fluid. J. Forensic Sci 1999;44:1057-1060
29. Johnson Elizabeth et al: Detection of Prostate Specific Antigen by ELISA. J Forensic Sci 1993;38(2):250-258
30. Noda Hiroshi et al: Determination of ABO Blood Grouping from Human Oral Squamous Epithelium by the Highly Sensitive Immunohistochemical Staining Method En Vision+. J. Forensic Sci 2002;47(2):341-344

FALLA DE ORIGEN