



***UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MÉXICO***

***FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"ZARAGOZA"***

***"TECNICAS DE ORIENTACION PARA LA
IDENTIFICACIÓN DE POSIBLES MANCHAS DE
SANGRE ENCONTRADAS EN EL LUGAR DE LOS
HECHOS".***

ALUMNO: ADAME CASTAÑEDA FRANCISCO JAVIER

No. DE CUENTA: 099000873

ORIENTACION: BIOQUIMICA CLINICA.

10º DIPLOMADO EN QUIMICA LEGAL

Asesor: Q.F.B. Lilia Tequianes Bravo.

Vo. Bo.

México D.F.

OCTUBRE, 2011.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

AGRADECIMIENTOS.

La presente tesina es el esfuerzo de toda una experiencia universitaria en la cual, directa e indirectamente participaron varias personas a las cuales quiero agradecer, ya que sin su valiosa aportación no hubiera concluido este gran sueño.

En primer lugar a mis papás, Francisco y María de Lourdes, les agradezco infinitamente su apoyo, su guía y toda su confianza en este camino. Soy afortunado por contar siempre con su amor, comprensión y ejemplo. Esta tesina es suya.

A mi asesor de tesina la Q.F.B. Lilia Tequianes Bravo, a quien le debo el hecho de que este trabajo tenga los menos errores posibles. Gracias por su apoyo, dedicación y paciencia.

A mis hermanos Antonio y Laura, que han sido un ejemplo en mi vida. Gracias por su apoyo.

A todos mis compañeros y amigos que sin duda fueron una parte importante en la culminación de este sueño.

Francisco Javier Adame Castañeda.

INDICE

RESUMEN	4
INTRODUCCIÓN	5
MARCO TEÓRICO	7
1. CRIMINALISTICA	7
2. CIENCIAS FORENSES	7
3. LOS INDICIOS EN LA ESCENA DEL CRIMEN	10
3.1 CONCEPTO DE INDICIO	11
3.2 CLASIFICACIÓN DE LOS INDICIOS	11
3.3 MANEJO DE LOS INDICIOS	13
3.4 RECOMENDACIONES PARA EL MANEJO DE LOS INDICIOS	13
4. PRIMEROS ESTUDIOS DE LA SANGRE.	14
5. HEMATOLOGÍA FORENSE	17
5.1 HEMATOLOGÍA RECONSTRUCTORA	17
5.1.1 CLASIFICACIÓN DE LAS MANCHAS DE SANGRE	17
5.2 HEMATOLOGÍA IDENTIFICADORA	19
5.3 RECOLECCIÓN Y EMBALAJE DE LAS MUESTRAS DE MANCHAS DE SANGRE.	21
6. TÉCNICAS DE ORIENTACIÓN PARA LA IDENTIFICACIÓN DE MANCHAS DE SANGRE ENCONTRADAS EN EL LUGAR DE LOS HECHOS.	32
6.1 METODOLOGÍA GENERAL PARA LA INVESTIGACIÓN CRIMINALISTICA DE LAS MANCHAS DE SANGRE	32

6.2 TÉCNICAS DE ORIENTACIÓN	32
6.2.1 REACCIÓN DE LA BENCIDINA O DE ADLER	33
6.2.2 REACCIÓN DE LA FENOLFTALEINA REDUCIDA O DE KASTLE-MAYER	36
6.2.3 REACCIÓN DE LA LEUCOMALAQUITA VERDE	39
6.2.4 TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS	40
6.2.5 TÉCNICA DE LUMINOL	42
7. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	46
8. JUSTIFICACIÓN	47
9. IMPORTANCIA DEL ESTUDIO	47
10. OBJETIVOS	48
11. METODOLOGÍA	48
12. RESULTADOS	49
13. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	52
14. CONCLUSIONES	55
15. PROPUESTAS	56
16. REFERENCIAS	57

RESUMEN.

El presente trabajo es un estudio bibliográfico relacionado con la hematología forense, una aplicación a la criminalística, sobre las técnicas de orientación más utilizadas por los peritos, siendo las reacciones de la bencidina, de la fenolftaleína, de la leucomalaquita verde, las técnicas espectroscópicas y la técnica del luminol.

Estas técnicas tienen la finalidad de dar un panorama previo al estudio de un indicio, en este caso para determinar si las manchas encontradas en un hecho delictivo son sangre o no, ya que posteriormente y dependiendo de los resultados obtenidos se pueda recurrir a las técnicas de confirmación, para su identificación.

Estas técnicas son fundamentales en cualquier investigación criminalística con el fin de determinar la naturaleza de una mancha que se sospecha sea sangre ya que este indicio es muy frecuentemente encontrado en los hechos delictivos. Por ello se debe disponer de un método sencillo, rápido y sensible que permita determinar si la mancha que es motivo de estudio es o no sangre.

INTRODUCCIÓN

De acuerdo a nuestra investigación bibliográfica se puede decir que, durante siglos, las civilizaciones se han enfrentado a diversas circunstancias económicas, de salud, educativas, etc. como también de actos de violencia, de ahí surge la necesidad de crear herramientas para el esclarecimiento de los delitos y como ende el surgimiento de su estudio, dando lugar a la criminalística. Esta ciencia nos permite encontrar la resolución de las interrogantes de un delito y que a su vez se apoya de diversas ramas científicas y métodos para su mejor resultado. El hecho de un crimen y el querer llegar al o los inculpados nos llevara a una investigación minuciosa, donde el personal encargado deberá contar con los conocimientos y estrategias más factibles para identificar correctamente los indicios. Dependiendo de la clasificación de estos, se puede decidir las técnicas que nos orientaran a identificar el modus operandi que se utilizó para la consumación de dicho crimen. La clasificación de los indicios es bastante amplia, pero sin lugar a duda los restos de la presencia de sangre en el delito es considerada la de mayor utilidad. Esta es clasificada propiamente como evidencia física en el delito como un indicio orgánico, puede estar presente en sus diferentes manifestaciones: líquida, coagulada y seca, ya sea sobre armas, ropas, piso, tierra, muebles, muros, vehículos, etc. Las manchas de sangre constituyen la base del estudio de la hematología forense, que estudiara su mecanismo de producción, su forma, extensión, situación, tamaño, color, aspecto, cantidad y orientación. La hematología forense puede ser: a) reconstructora y b) identificadora. En México no existen escritos específicos sobre esta área de la hematología forense y sus divisiones, debido al gran contenido de la información solo se abordara la parte de la hematología forense identificadora, esta permite tener una orientación y certeza, si es o no sangre lo que encontramos en el delito a su vez de saber de que especie es, si es animal o humano, el grupo sanguíneo al que pertenece e incluso de que región corporal procede. Las técnicas de orientación para la identificación de posibles manchas de sangre más utilizadas en la identificación de indicios son: con Bencidina u orto-toluidina, fenoftaleína, leucomalaquita verde, técnicas

espectroscópicas y luminol. Esta parte es muy importante sobre todo en casos de criminalística pues requiere de mucha seguridad al momento de la identificación. Pero en los últimos años se ha encontrado que por excelencia y veracidad la técnica de orientación ideal es la de luminol.

MARCO TEÓRICO

1. CRIMINALÍSTICA.

La criminalística es un conjunto de técnicas y procedimientos de investigación cuyo objetivo es el descubrimiento, explicación y prueba de los delitos, así como la verificación de sus autores y víctimas, basándose en conocimientos científicos para reconstruir los hechos. El conjunto de disciplinas auxiliares que la componen se denominan "ciencias forenses", estas se basan en la aplicación de los métodos científicos a los procesos de la materia que se involucran con un hecho delictivo. La palabra *forense* viene del adjetivo latino *forensis*, que significa "perteneciente o relativo al foro"; en la antigua Roma, una imputación por crimen suponía presentar el caso ante un grupo de personas notables en el foro, tanto la persona que se la acusaba por haber cometido el crimen como el denunciante tenían que explicar su versión de los hechos. La argumentación, las pruebas y el comportamiento de cada persona determinaban el veredicto del caso.¹

2. CIENCIAS FORENSES.

Dentro de la criminalística existen aplicaciones clásicas, como la fotografía, planimetría, balística, química, dactiloscopia, mecánica, urbanismo y paisajismo, ecología e informática, entre otras. Los estudios criminalísticos se apoyan en métodos y técnicas propias del trabajo de diferentes disciplinas, ciencias auxiliares y laboratorios periciales, entre los que se encuentran:¹⁻³

- 1) Arte forense: El retrato compuesto o hablado, realizado a partir de la memoria de la víctima, es el más famoso, pero también se llevan a cabo dibujos con base en videos y fotos, y progresiones de edad en caso de personas desaparecidas. Utilizan un restirador, lápices, testimonio, ya sean verbales o con fotos y videos, para ofrecer opciones al artista.

- 2) Antropología forense: Para poder determinar el sexo, talla, edad, grupo étnico, e incluso llegar a la reconstrucción facial de restos humanos, se requiere de varias semanas de trabajo en el laboratorio antropológico.
- 3) Balística forense: La balística forense, como rama de la balística general y parte fundamental de la Criminalística, tiene como objetivo que en sus laboratorios se lleven a cabo todos los procedimientos y estudios necesarios de los cartuchos, balas y armas relacionadas con los homicidios, suicidios, accidentes y lesiones personales.
- 4) Dactiloscopia: Aunque la gran mayoría de las impresiones dactilares pueden hallarse en el lugar del hecho, en otros casos es necesario que los objetos que posiblemente tengan huellas latentes sean trasladados a los laboratorios para su reactivación, utilizando polvos, vapores de yodo, cianoacrilato de sodio o por medio del rayo láser.
- 5) Documentoscopia: La palabra se origina a partir de la conjunción del vocablo latino "documentum" (enseñar, mostrar) y del griego "skopein" (ver, observar) y, junto con la palabra "Documentología" se utiliza para nombrar al conjunto estructurado y sistematizado de conocimientos y procedimientos técnico-científicos dentro de la Criminalística dirigidos al estudio de los documentos en general, características, forma de confección, alteraciones, etc., como así también a la investigación de manuscritos y/o firmas que ellos contengan y que sean de interés para la investigación que se realiza, pertenezca ésta al fuero judicial o al privado.
- 6) Entomología forense: La entomología forense se basa en la sucesión ecológica de los artrópodos que se instalan en un cadáver para determinar la fecha de la muerte. Es especialmente útil en cadáveres con varios días, semanas o meses de antigüedad.
- 7) Fotografía forense: La participación del fotógrafo para realizar la fijación fotográfica de la escena y todo lo relacionado con la misma es fundamental;

sin embargo, es sólo la primera parte de su trabajo, ya que posteriormente tendrá que trasladarse al laboratorio de fotografía forense para llevar a cabo el revelado del material con el que serán ilustrados los dictámenes.

- 8) Genética forense: El estudio de material biológico, como la saliva, semen, sangre, pelo, y otros tejidos, permiten tipificar el ácido desoxirribonucleico (ADN), método identificador moderno y que por su gran precisión se ha denominado huella genética.
- 9) Hecho de tránsito: Mediante, la aplicación de diferentes técnicas de análisis químico, pueden examinarse los fragmentos de pintura, efectuando distinciones en cuanto al color y los compuestos de las mismas.
- 10) Incendios y explosivos: Para el estudio de los residuos que dejan los incendios y las explosiones, pueden utilizarse la cromatografía de capa fina, la cromatografía gas-líquido y la cromatografía líquida de alto rendimiento; pudiéndose determinar el tipo de sustancia que se utilizó.
- 11) Medicina forense: Si se considera que el laboratorio es el lugar en donde se realizan trabajos de investigación científica, bien puede estimarse el necrocomio o a los Servicios Médicos Forenses como los laboratorios que utilizan los médicos para el estudio minucioso del cadáver, y para determinar su identidad y causa de muerte.
- 12) Meteorología forense: Es el análisis de las condiciones climáticas pasadas de un lugar específico. Es una rama bastante empleada en los procesos judiciales en los que participan compañías de seguros y también en las investigaciones de homicidios.
- 13) Odontología forense: La utilización del laboratorio en la odontología forense se realiza cuando se requiere obtener o elaborar moldes para determinar las características dentales de un individuo.

- 14) Patología forense: Estudia las pistas que llevan a la causa de la muerte presentes en el cuerpo como un fenómeno médico.
- 15) Piloscopia: Por medio del estudio químico puede determinarse si el pelo en estudio se trata de pelo humano o de animal, así como otras características.
- 16) Psicología forense: Comprende un amplio rango de prácticas que involucran principalmente evaluaciones de capacidad de los acusados, informes a jueces y abogados y testimonio en juzgados sobre temas determinados
- 17) Química forense: En esta importante especialidad se aplican todos los conocimientos y técnicas químicas con objeto de conocer la naturaleza del hecho delictivo.
- 18) Hematología forense: En esta especialidad la aplicación de la química es fundamental si una mancha que se halló en el lugar del hecho es sangre y si ésta es de animal o humana; en caso de tratarse de sangre humana se determinarán los grupos y el factor Rh

Gracias a estas ciencias forenses, la investigación de un hecho delictivo se ve avalada por técnicas reconocidas e indesmentibles, basadas en el conocimiento y experimentación científica.

3. LOS INDICIOS EN LA ESCENA DEL CRIMEN

Los elementos, las muestras o vestigios encontrados en el lugar de los hechos, constituyen indicios que pueden ser una evidencia que sirve como un indicador para el esclarecimiento de un hecho determinado, luego de un análisis completo y estudio minucioso. Es importante considerar a los indicios, como elementos de hechos delictivos o indicadores de las pruebas del delito en la escena del crimen; y dentro de los estudios de la criminalística se han considerado los llamados “siete puntos de oro” con la finalidad del esclarecimiento de todo crimen y estas están

representadas a través de las siguientes preguntas: ¿Qué?, ¿Quién? , ¿Cuándo? , ¿Dónde?, ¿Cómo?, ¿Con quién? y ¿Porqué?, estas interrogantes serán absueltas y resueltas por los investigadores y profesionales de cada especialidad, de los indicios analizados.⁴

3.1 Concepto de indicio

Proviene del latín “indicium” referido a una señal o signo aparente y probable de que existe una supuesta cosa. Desde el punto de vista criminalístico, los indicios son evidencias físicas-materiales que nos pueden conducir a determinar la existencia de un hecho punible.⁴

3.2 Clasificación de los indicios

Los indicios pueden localizarse en:⁵

- a. El lugar de los hechos
- b. En el cuerpo de la víctima
- c. En el cuerpo del victimario
- d. En las zonas aledañas

A fin de poder ser estudiados y posteriormente valorados, pueden dividirse en tres clasificaciones:

3.2.1 Por el momento de su producción pueden ser:

- 3.2.1.1. Antecedentes: los generados antes del hecho.
- 3.2.1.2. Concomitantes: los que se generan durante el hecho.
- 3.2.1.3. Consecuentes: los que se generan con posterioridad al hecho.

3.2.2. Por su relación con el lugar de los hechos pueden ser:

- 3.2.2.1. Indicios determinados: son aquellos que requieren solamente un análisis minucioso a simple vista o con lentes de aumento y que guarden relación directa con el objeto o persona que los produce.
 - 3.2.2.2. Indicios indeterminados: son aquellos que requieren de un análisis completo para el conocimiento de su composición y estructura de acuerdo con su naturaleza física, pues de otra forma no estaríamos en la posibilidad de definirlos.
 - 3.2.2.3. Indicios asociativos: los que corroboran y guardan relación directa con el hecho que se investiga.
 - 3.2.2.4. Indicios no asociativos: se localizan en el lugar del hecho o del hallazgo, pero o están relacionados íntimamente con el caso que se investiga.
 - 3.2.2.5. Indicios microscópicos: son aquellos que por su naturaleza se requiere de algún instrumento óptico (lupas o microscopios) para su observación.
 - 3.2.2.6. Indicios macroscópicos: los que se observan a simple vista.
 - 3.2.2.7. Indicios trasladables: son aquellos que por su naturaleza, forma, volumen, peso o cualidades inherentes, se pueden sacar del lugar de investigación y se pueden preservar de forma adecuada para trasladarse al laboratorio para el estudio respectivo.
 - 3.2.2.8. Indicios no trasladables: son aquellos que por su naturaleza, forma, volumen, peso o cualidades inherentes, no pueden moverse del lugar de investigación ya que alterarían sus condiciones originales (huellas de calzado, dactilares, etc).
- 3.2.3. Por sus características físicas, si nos centramos en una clasificación propiamente como evidencias físicas y materiales que constituyen indicios, pueden dividirse en:

- 3.2.3.1. Orgánicos: todos los de procedencia humana o animal. Los indicios más frecuentemente localizados en la escena del crimen son:
- 3.2.3.1.1. Cadáveres: en los cuales se puede observar posiciones cadavéricas, lesiones y signos tanatológicos.
 - 3.2.3.1.2. Miembros aislados. Pueden ser extremidades cefálicas, superiores o inferiores, caja torácica, región pélvica, placentas, etc.
 - 3.2.3.1.3. Osamentas. Completas o por partes.
 - 3.2.3.1.4. Fluidos biológicos: sangre en diferentes estados (líquida, coagulada y seca), semen (asociado generalmente a delitos sexuales), saliva (asociado a delitos sexuales), vómito, orina, elementos filamentosos (pelos, pestañas, cabellos, vello púbico, vello axilar, etc).
- 3.2.3.2. Inorgánicos: pueden ser naturales (polvo, oxido, cenizas, manchas, etc) y artificiales (tintas, armas, restos de incendios, papeles, monedas, etc)

3.3 Manejo de indicios.

El manejo inadecuado de la evidencia física conduce a su contaminación, deterioro o destrucción, siendo esta última la causa más frecuente que impide su posterior examen en el laboratorio. Por esta razón, cuando llegue el momento de proceder a su levantamiento se realizará con la debida técnica a fin de evitar su alteración.⁶

3.4 Recomendaciones para el manejo de los indicios: ⁶⁻⁷

3.4.1. Los indicios deben de manipularse lo menos posible, para evitar contaminación o destrucción.

3.4.2. Se debe recolectar la mayor cantidad posible de muestra de cada uno de los indicios, ya que parte de ellas se consume en el laboratorio para su análisis.

3.4.3. Evitar mezclar los indicios.

3.4.4. Embalarla en los sitios que no ameriten estudio ulterior.

3.4.5. Embalarla individualmente, procurando que se mantenga la integridad de su naturaleza.

4. PRIMEROS ESTUDIOS DE LA SANGRE COMO UN INDICIO.

Los primeros estudios para la identificación de la sangre como un indicio dentro de la criminalística, surgen en el año de 1853, cuando el anatomista Ludwig Teichman Stawlarsgy de Cracovia, observa que la sangre tratada con ácido acético formaba cristales característicos a los que da el nombre de cristales hemínicos que más tarde son designados como de Teichman; los que no se forman en presencia de metales oxidados o con sangre expuesta a más de 140°C.⁸

En 1861 en Groninga, el holandés Van Deen, observaba que la hemoglobina no solo daba color a la sangre sino que principalmente poseía la cualidad de asimilar oxígeno al circular por los pulmones y llevarla a todo el torrente sanguíneo; por lo tanto la hemoglobina estaba en condiciones de absorber oxígeno, pero también de liberarlo, Van Deen al realizar experiencias, nota que los extractos alcohólicos de plantas de Guayaco se teñían de azul al ponerlos en contacto con sangre y trementina. El tinte azul se debía al oxígeno y no se producía en ausencia de sangre, de donde infirió Van Deen que la hemoglobina de la sangre liberaba oxígeno de la trementina y lo pasaba al Guayaco.⁹

El alemán Schönbein, en el año de 1863 descubre otra prueba similar al observar que la hemoglobina tenía un fermento mediante el cual el peróxido de hidrógeno producía espuma blanca (catalasas que hidrolizan el agua oxigenada, liberando

oxígeno y agua); más tarde comprobó también que esta reacción no solo se obtenía con la sangre sino también con otros oxidantes. Roberto Magnanini, en 1898 señala que al tratar la sangre humana con hidróxido de potasio se formaba hematina, la que poseía un espectro diferente. El cambio se producía a diferentes velocidades según se tratara de sangre humana o de animal, con sangre humana lo obtenía en dos minutos, con la sangre de perro en 6, con la de caballo en 3, etc. El método tenía el inconveniente de ser útil solamente con sangre fresca. José María Bastero Beguiristain publica su estudio *Nuevas aportaciones al estudio espectral de las manchas de sangre desde el punto de vista médico Legal*, en julio de 1936.⁹⁻¹⁰

En el año de 1904 Adler reporta su estudio sobre el empleo de la prueba de la bencidina para la identificación de sangre, método que actualmente es utilizado por muchos investigadores forenses como prueba de orientación.¹⁰

En el año de 1907 Lecha Marzo efectúa también importantes investigaciones para la identificación de la sangre. Después de los estudios realizados por Teichman, Takayama publica en 1912 su trabajo que consistía en un nuevo procedimiento para detectar sangre por medio de los cristales de piridina-hemocromogéno. La técnica de Kastle-Mayer que como prueba de orientación es hasta ahora la más eficiente, fue avalada por Glaister desde 1926. En 1900, Uhlenhuth descubre que inyectando sueros de diferentes animales o conejos, obtenía, del conejo así tratado, un suero que precipitaba, pero solamente con sangre del animal cuyo suero se había inyectado al conejo. De esta manera, si se inyectaba sangre humana a los conejos, al cabo de cuatro semanas se obtenía un suero que precipitaba solamente con sangre humana. Uhlenhuth da a esta prueba el nombre de "Prueba de las precipitinas", constituyendo este descubrimiento, para la medicina forense y la Criminalística, el más grande y portentoso de los comienzos del siglo XX. Casi paralelamente a este suceso, en el año de 1900, Karl Landsteiner, como producto de sus observaciones, determina que cuando la sangre de un individuo es mezclada con la de otro, podía causar la formación de gránulos de forma irregular de glóbulos rojos y/o hemolisis y descubre la

existencia de los grupos sanguíneos del sistema A,B,O, que son hasta la fecha los grupos antigénicos de sangre humana más importantes; actualmente ya no son solo estos tres grupos, el número ha crecido a casi 400 tipos diferentes de antígenos presentes en las células rojas, los que han sido agrupados en numerosos sistemas. El mismo Landsteiner, en colaboración con Miller, aporta el método clásico de absorción para la determinación del grupo sanguíneo del sistema A,B,O, en manchas de sangre seca en 1925, método que es descrito por Wiener con el nombre de Técnica de Absorción-Inhibición y utilizado tanto para el sistema A,B,O, como para los antígenos eritrocitarios M,N, sistema este último descubierto junto con el P en el año de 1927 también por Landsteiner; un poco más tarde, en 1939 en trabajos efectuados por Wiener se descubre el sistema Rhesus (Rh). Ducos y Reffia en 1954 demuestran la presencia de ese sistema en sangre seca.¹¹

En 1960, Kind introduce el método de absorción-elución que viene a abolir el tradicional de absorción-inhibición para determinación de los grupos A,B,O; Nichols y Pereira en 1962, reportan su uso tanto para el sistema A,B,O como para el M,N, y en 1968 Lincoln y Dodd efectúan experiencias con técnicas de elución para la detección de los antígenos del sistema Rh.¹²

Los estudios para la individualización de la sangre desde el punto de vista genético, aplicado a fines forenses por medio de técnicas electroforéticas, fueron hechos por B.J. Culliford de 1963 a 1967 y Benjamin W. Grunbaum de la Universidad de California, desde 1964 continúa con esos estudios en la Asociación Californiana de Criminalística. En el año de 1985, Alec Jeffreys, en Inglaterra, aplica por primera vez, la técnica de Biología Molecular, para identificar a un presunto responsable, relacionado con un doble homicidio y violación, comprobando su culpabilidad, por medio de fragmentos polimórficos de longitud variable, llamados VNTR (número variable de repeticiones en tándem; una repetición en tándem es una secuencia corta de ADN que se repite consecutivamente) a través de la técnica denominada RFLP (polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción), que se encuentran distribuidos en el

ADN humano y que son capaces de individualizar a una persona, incluso hermanos, exceptuando gemelos univitelinos.¹²

5. HEMATOLOGIA FORENSE.

La hematología forense es el estudio de la sangre aplicado a la criminalística. Las manchas sanguíneas constituyen la base del estudio de esta área desde el mecanismo de su producción, su forma, extensión, situación, tamaño, color, aspecto, hasta su orientación.¹³

La hematología forense comprende dos ramas:

- 1) Reconstructora.
- 2) Identificadora.

5.1 HEMATOLOGÍA RECONSTRUCTORA.

Se encarga de la determinación e interpretación del mecanismo de producción de la imagen sanguínea propias que se ven alteradas por cualquier factor que las produce por las características del soporte, es decir la forma precisa en donde se han producido los hechos, víctima-agresor, o los movimientos realizados en el sitio de suceso.¹³

5.1.2 Clasificación de las manchas sanguíneas¹⁴

5.1.2.1. Manchas de sangre por contacto: Se producen por el contacto directo de la fuente productora y el soporte. El contacto puede ser simple, por ej.: las manchas de sangre de las ropas que están en contacto directo con la herida. El contacto puede ser por limpiamiento, ej.: al proceder a la limpieza de manos, armas, etc., las manchas aparecen en los objetos utilizados para ello (papeles, paños, géneros, etc.).

5.1.2.2. Las manchas de sangre por arrastre se producen cuando la víctima se arrastra o es arrastrada.

5.1.2.3. Manchas de sangre por escurrimiento. La sangre se desliza por el soporte impermeable, desde la fuente productora (herida). Cuando el desplazamiento se hace sobre un soporte inclinado se forma el reguero; cuando el soporte es horizontal o presenta depresiones la sangre forma charcos. El soporte puede estar constituido por el cuerpo, suelo o piso, murallas, ropas, etc.

5.1.2.4. Manchas de sangre por Limpiamiento. Se produce cuando hay tentativa de limpiado o se observa el enjuagado de un soporte.

5.1.4.5. Manchas de sangre por proyección. Se producen cuando la sangre es proyectada en forma más o menos violenta sobre el soporte. Si la mancha de sangre proyectada al soporte se presenta en forma de imágenes aisladas y de disposición irregular, constituyen las salpicaduras, distinguiéndose en ellas salpicaduras gruesas y finas. En general, las salpicaduras gruesas corresponden a la contusión repetida sobre una superficie sangrante. Las salpicaduras finas se observan generalmente en la mano del suicida que se dispara sobre la sien. La rociadura se produce cuando la fuente productora se desplaza linealmente frente al soporte, ej.: herida arterial y movilización de segmentos corporales o armas ensangrentadas.

5.1.4.6. Manchas de sangre por goteo de altura. Se produce al caer la gota de sangre desde la fuente productora hasta el soporte, impulsada por la fuerza de gravedad. La imagen producida tomará caracteres especiales de acuerdo a la altura, al desplazamiento y detenciones del herido y a la inclinación del soporte. A medida que la fuente productora se va alejando del soporte, la forma de la gota sufre variaciones progresivas en su contorno. La detención del herido queda indicada por la afluencia de las gotas que pueden llegar a formar charcos o regueros. La inclinación de soporte se manifiesta también por la forma ovalada de la gota, que es directamente proporcional a la inclinación del soporte (a mayor inclinación, mayor

alargamiento) En el caso de soporte vertical, por lo general la gota será de contorno con radiaciones regulares, pudiéndose observar un escurrimiento vertical desde la gota.

5.1.3 Estudio del soporte.

Es toda superficie de recibir manchas de sangre (cuerpo, ropas, suelo, pared, vidrios, etc.) En el desarrollo de la clasificación se puede apreciar la importancia del soporte en la determinación de las características de las manchas de sangre. Las manchas de sangre por contacto tendrán particularidades especiales atendiendo a la permeabilidad e impermeabilidad del soporte. Si éste es permeable y permite la imbibición (absorber un cuerpo sólido a otro líquido) sanguínea, se observarán las manchas de sangre “por impregnación”, especialmente en tejidos.¹⁵

5.2 HEMATOLOGÍA IDENTIFICADORA.

Es la rama de la hematología forense que se ocupa de identificar sangre. Los procedimientos empleados están destinados a investigar si es sangre, a qué especie pertenece y en lo posible su individualidad. El trabajo policial se ve frecuentemente solicitado a determinar en los delitos contra las personas, manchas sospechosas de sangre. Su aspecto macroscópico induce frecuentemente a error, siendo necesario recurrir a las pruebas de laboratorio para obtener el resultado verdadero. La muestra sospechosa de sangre, puede ser fresca o antigua, sólida o líquida, pura o mezclada o aparecer en diferentes soportes. Circunstancias tan variadas exigen del laboratorio especializado el empleo de técnicas adecuadas condicionadas a la naturaleza, cantidad, antigüedad, etc., de la muestra a analizar. La autoridad debe conocer cómo, cuándo y qué debe pedir al enviar la muestra y al mismo tiempo saber la forma en que debe recoger, envasar y transportarla al laboratorio. Con la muestra sospechosa se procede en el laboratorio a verificar, mediante pruebas de orientación y de certidumbre, si es sangre.¹⁶

5.2.1 Rastreo hemático.

El rastreo de sangre en el sitio de suceso tiene por objeto detectar, mediante una búsqueda metódica, toda clase de vestigios de sangre, tanto en el sitio de suceso mismo, como en el cadáver, vestimentas y también en el sospechoso. Una vez detectada la Imagen sanguínea se aplica el procedimiento criminalístico normal: PROTEGER el vestigio para evitar que sea alterado o borrado; FIJAR, mediante la fotografía, planimetría y descripción escrita; TRANSPORTAR el vestigio al Laboratorio de Criminalista (cuando sea procedente); la imagen sanguínea, es decir, reconstruir su origen y mecanismo.¹⁷

5.2.2 Métodos de rastreo.

Se puede efectuar en forma RADIADA, a partir del punto en que se encuentra el cadáver. En sitio de suceso cerrado se debe examinar las vías de entrada y salida: puertas, ventanas, pasillos, etc. Especial cuidado se observa en los pomos, manillas y pasamanos de escaleras. También se rastrea sangre en muros, techo (sangre por proyección); cubiertas y bajo la cubierta de las mesas y sillas. Incluso debe revisarse las patas de las sillas y las juntas del piso, ya que en muchas oportunidades el sitio de suceso (especialmente en negocios) puede haber sido lavado, pero nadie presta atención a dichos sitios donde puede haber sangre y, por lo tanto, no son lavados. Otro lugar que por ningún motivo debe ser olvidado en el rastreo, es el baño, allí se examina el lavamanos, cesto de papeles, interior del W.C., cadenilla de los tapones, toallas y otros elementos de limpieza y secado. En los sitios de suceso abiertos, especialmente caminos polvorientos, la sangre se busca soplando ligeramente los sitios sospechosos, aparecerá entonces la mancha de sangre bajo el polvo. Se incluye también el rastreo en arbustos, pasto, rocas, hojas, etc.¹⁸

5.2.3 Relación entre sangre y sitio del suceso.

El perito encargado de la investigación debe establecer si existe realmente una relación entre la cantidad de sangre que se encuentra en el sitio de suceso y en el

cadáver y el carácter de las lesiones, es decir, si el cadáver presenta lesiones, que necesariamente producirán un gran sangrado, pero en el sitio de suceso encontramos sólo una pequeña cantidad, es lógico suponer que hubo traslado del cadáver y, por lo tanto, el rastreo debe ampliarse y considerarse esta posibilidad. Si, por el contrario, se encuentra demasiada sangre en los sitios de suceso que no se explica por el tipo de lesiones, se debe presumir que hubo otras personas heridas en el lugar.¹⁸

5.2.4 Elementos para efectuar rastreo hematológico

El investigador debe premunirse de un maletín que contenga una lupa, tubos de ensayo para transportar muestras, sobres de papel, papel filtro y etiquetas, cortaplumas para sacar muestras de madera o raspar otras superficies con sangre. Es necesario extraer una muestra de todo vestigio sanguíneo en el sitio de suceso y del cadáver para enviarlo al Laboratorio y solicitar los exámenes pertinentes, indicando en el respectivo embalaje su procedencia y el lugar donde se encontró. Las prendas de vestir o armas, se envían directamente al Laboratorio, sin necesidad de sacarles muestras (calzones, pañuelos, cuchillos, pistolas). Es Obvio que el químico necesitará una muestra de la sangre de la víctima para efectuar comparaciones y esto debe tenerse en cuenta. Para sacar muestras de sangre con papel filtro, éste debe aplicarse en la mancha, humedecido en agua salada. (Evita la destrucción de los glóbulos y elementos de la sangre).¹⁹

5.3 RECOLECCIÓN Y EMBALAJE DE LAS MUESTRAS DE SANGRE.²⁰

La imprescindible protección y conservación del lugar de los hechos, debe entenderse como la pieza fundamental de la investigación criminalística, para satisfacer tales exigencias es necesario que se haya respetado el lugar, y que la evidencia se haya fijado, levantado y embalado adecuadamente.

5.3.1. Recomendaciones generales de recolección y embalaje.²⁰⁻²¹

En cuanto a su recolección, levantamiento, embalaje y envío al Laboratorio, se recomienda lo siguiente:

- 5.3.1.1. Como primera medida es necesario volver a recalcar que cuando las manchas de sangre se encuentren depositadas en soportes transportables, es conveniente no tocarlas, y por lo tanto se deben recolectar y remitir al laboratorio para su estudio.
- 5.3.1.2. Los métodos de levantamiento de rastros de sangre cuando el soporte no pueda ser enviado al laboratorio son variados, según las condiciones del mismo.
- 5.3.1.3. En general, cuando el soporte lo permite, se procede al raspado con un cuchillo filoso o elemento similar.
- 5.3.1.4. Sobre una madera muy dura se efectuará el mismo procedimiento, pero si ésta fuere blanda es preferible efectuar un corte en ella por la parte inferior, retirando la porción que se encontrare maculada.
- 5.3.1.5. Si estuvieran sobre tierra o elemento similar se levantará una porción de ese material maculado, tratando de que sea lo suficientemente amplio (más no excesivo) como para mantener la mancha.
- 5.3.1.6. Sobre tejidos tales como alfombras, tapices, etc. se hará el corte del lugar correspondiente y cuando ello no fuere posible se colocará debajo del mismo un papel secante blanco químico puro o papel filtro; luego por medio de una cuenta gotas se deja caer solución salina fisiológica, hasta que traspase al elemento cuestionado y el secante o papel colocado en su parte inferior absorba buena cantidad del material a analizar. Después se dejará secar, previo a su embalaje y remisión.
- 5.3.1.7. Cuando la sangre sea abundante y aún líquida, se procederá a su levantamiento con una cuchara, pipeta o elemento similar y sin ningún agregado se colocará en un envase de vidrio, herméticamente cerrado; si hubiera demora para su remisión al laboratorio, se conservará en una hielera.

- 5.3.1.8. Las ropas ensangrentadas deben ser secadas al aire, en lugar cubierto y donde no haya corriente, a los fines de evitar que se contamine con polvo existente. Para este trabajo nunca debe emplearse ventiladores artificiales o calor artificial. El primero puede hacer desaparecer rastros existentes como pelos, fibras, deflagración de pólvora, etc., y el segundo tiende a fijar la sangre en los géneros, y si la temperatura es muy elevada perjudicará su consistencia y por ende, el posterior análisis en el laboratorio.
- 5.3.1.9. Luego de estos serán envueltas en papel madera limpia o dispuestas en cajas de cartón, cuidando de no mezclar las ropas de la víctima con las del imputado, y de ser posible embalarlas todas separadamente. Nunca se empleará papel de poca consistencia que pueda romperse y permitir que se pierdan partículas desprendidas de las manchas.
- 5.3.1.10. Se tratará de evitar los plegados excesivos en dichas ropas con el objeto de no provocar el resquebrajamiento de las zonas maculadas y así producir la pérdida de partículas de sangre seca.
- 5.3.1.11. Los demás elementos como hachas, cuchillos, armas de fuego, machetes, barretas, etc., deberán ser puestos en cajones de madera o de cartón duro y fuerte, procurando atarlos en su interior para no producir su desplazamiento en el transporte y los consiguientes desprendimientos de manchas como se mencionó precedentemente.
- 5.3.1.12. La sangre recogida aún líquida, como se ha dicho, deberá ser colocada en tubos de ensayo o frascos de vidrio herméticamente cerrados, sin adosárseles ninguna sustancia. Cuando la remisión al laboratorio no sea inminente, serán conservados en una hielera.
- 5.3.1.13. Las raspaduras o residuos de sangre seca también serán envasados en tubos de ensayo o frascos de vidrio. Nunca serán ensobrados o envueltos en papel, ya que puede originarse la pérdida de partículas, sea por las esquinas del sobre o bien por los pliegues del papel.
- 5.3.1.14. Es de hacer constar que todos estos elementos deben estar rotulados con indicación de la causa (carátula), del magistrado de intervención, de

quién según el caso, es la víctima y el imputado, la fecha de la recolección y el embalaje, y serán firmadas por la instrucción y testigos del caso.

5.3.1.15. Cuando la recolección de la sangre se hubiera hecho por el método del papel secante o papel filtro, en su envío al laboratorio, que ahora si puede efectuarse en un sobre, se especificará claramente el método que se empleó para el levantamiento de la mancha.

5.3.2. Con respecto a la sangre enviada se puede, en general, solicitar lo siguiente:

5.3.2.1. Si se trata de sangre.

5.3.2.2. Si es sangre humana o de determinado animal.

5.3.2.3. Grupo sanguíneo al que corresponde.

5.3.2.4. Si se puede determinar de qué parte del cuerpo proviene.

5.3.2.5. Si se encuentran mezclados con ella otros elementos. En caso afirmativo, de cuáles se trata.

5.3.2.6. Método empleado en cada estudio.

5.3.3 Procedimiento para la recolección y embalaje de las muestras²¹

5.3.3.1. Recolección de derrame de sangre.

5.3.3.1.1. Utilice una jeringa estéril o gotero estéril y pase la muestra a un tubo estéril para almacenar sangre, sin anticoagulante (tubo de ensayo con tapón color rojo).

5.3.3.1.2. Si no tiene una jeringa nueva, también puede absorber parte de la muestra mediante el uso de un trozo de tela estéril o bien puede usar aplicadores estériles secos (unos 4), los cuales deben posteriormente ser colocados en un tubo estéril de acuerdo a lo estipulado en el punto anterior.

- 5.3.3.1.3. Levante una muestra control, repitiendo el procedimiento anterior, pero esta vez sobre un área de la misma superficie que no presente manchas de sangre.
- 5.3.3.1.4. Seque el material (torundas o trozos de tela) a temperatura ambiente y evitando el contacto con otras superficies. Para ello colóquelo en una placa de petrí o cajas pequeñas de cartón estériles.
- 5.3.3.1.5. Coloque el material en tubos estériles sin anticoagulante ni aditivos (tapón rojo).
- 5.3.3.1.6. Rotule cada tubo con la fecha y hora, sitio de la recolección, nombre de las partes y el nombre de la persona que recolectó.
- 5.3.3.1.7. Embale, rotule y lacre cada tubo en un sobre de papel manila de tamaño apropiado, indicando claramente que el sobre contiene un tubo de ensayo con sangre.
- 5.3.3.1.8. Transporte el indicio al laboratorio de hematología forense.

5.3.3.2 Recolección de manchas secas de sangre²²

5.3.3.2.1 Levantamiento por raspado. Esta técnica es aplicable sólo a manchas secas de sangre sobre objetos voluminosos o inamovibles.

Procedimiento.

1. Raspe la mancha con una hoja de bisturí NUEVA Y LIMPIA sobre una caja de petrí estéril. En caso de que al abrir el empaque se observe que la hoja está oxidada, descártela en un frasco para desechos de punzo-cortantes y utilice otra nueva.
2. Coloque el polvo en un tubo estéril sin anticoagulante (tapón rojo).
3. Rotule adecuadamente con la fecha y hora, sitio de recolección, nombre de las partes y el nombre de la persona que lo recolectó.

4. Levante una muestra control, repitiendo el procedimiento anterior, pero esta vez sobre un área que no presente mancha. Recuerde que debe cambiar la hoja del bisturí después de la recolección de cada muestra.
5. Embale, rotule y lacre cada muestra en un sobre papel manila de tamaño apropiado, indicando claramente que el sobre contiene un tubo de ensayo con sangre.

5.3.3.3 Levantamiento por cortado.

- 5.3.3.3.1** Si el objeto manchado es muy voluminoso, y el material permite el uso de tijeras, proceda a cortar parte del material de soporte conteniendo la mancha y séquelo al aire. Si el tamaño de la muestra lo permite utilice una placa de petrí estéril. Use pinzas descontaminadas.
- 5.3.3.3.2** Coloque el material en un recipiente (bolsa o sobre de papel) limpio y seco.
- 5.3.3.3.3** Rotule adecuadamente con la fecha y hora, sitio de la recolección, nombre de las partes y el nombre de la persona que recolectó.
- 5.3.3.3.4** Levante una muestra control, repitiendo el procedimiento anterior, pero esta vez sobre un área que no presente manchas de sangre.
- 5.3.3.3.5** Objetos de gran tamaño manchado con sangre, deberán ser embalados con papel.
- 5.3.3.3.6** Muestras pequeñas que se han secado, deben ser colocadas en placas de petrí plásticas pequeñas, o bien utilice tubos de ensayo estériles sin anticoagulante.
- 5.3.3.3.7** Embale, rotule y lacre cada muestra en un sobre manila de tamaño apropiado, indicando claramente que el sobre contiene un tubo de ensayo con sangre. En caso que utilice cajas de petrí, asegure la cubierta superior con cinta adhesiva, a fin de evitar que la muestra se salga.
- 5.3.3.3.8** Transporte al laboratorio de hematología forense.

5.3.3.4 Levantamiento por dilución.

Este procedimiento debe ser aplicado para recolectar muestras que se encuentren sobre superficies porosas y que no permitan un raspado de las manchas.

Para efectuarlo se podrá utilizar:

- a) Aplicadores húmedos con agua destilada o solución salina estéril ó,
- b) Trozo de tela estéril humedecido en agua destilada estéril o solución salina estéril (Use pinzas descontaminadas) ó,
- c) Hebras de hilo absorbente humedecido en agua destilada estéril o solución salina estéril (Use pinzas descontaminadas).

Procedimiento:

1. Frote el material de recolección humedecido sobre la mancha de sangre.
2. Seque el material antes de embalarlo en una placa de petrí estéril.
3. Coloque el material en tubos de ensayo sin anticoagulante (tubos de ensayo con tapón rojo).
4. Rotule adecuadamente con la fecha y hora, sitio de la recolección, nombre de las partes y el nombre de la persona que recolectó.
5. Levante una muestra control, repitiendo el procedimiento anterior, pero esta vez sobre un área que no presente mancha.
6. Embale, rotule y lacre cada tubo en un sobre de papel apropiado, indicando claramente que el sobre contiene un tubo de ensayo con sangre.
7. Transporte el indicio al laboratorio de hematología forense.

5.3.3.5 Recolección de manchas húmedas de sangre.

Esta técnica es aplicable solo a manchas húmedas de sangre sobre objetos voluminosos o inmóviles.

Procedimiento.

1. Si el material de soporte lo permite corte con hojas de bisturí nuevas y estériles.
2. Por el contrario, el levantamiento se puede realizar utilizando:
 - a) Aplicadores estériles secos ó,
 - b) Trozo de tela absorbente estéril (Use pinzas descontaminadas) ó,
 - c) Hebras de hilo absorbente estériles (Use pinzas descontaminadas).
3. La hoja de bisturí debe descartarse una vez recortada la muestra.
 - 3.1. Frote el material de recolección sobre la mancha de sangre. Utilice 3 a 4 aplicadores por mancha si esta es abundante; sino utilice solamente uno sin rotarlo.
 - 3.2. Levante la muestra control, repitiendo el procedimiento anterior, pero esta vez sobre un área que no presente manchas de sangre y utilizando una hoja de bisturí nueva y limpia o un aplicador estéril.
 - 3.3. Seque el material (torundas, hebras, trozo de tela o de soporte) en placas de petrí estériles antes de embalarlo.
 - 3.4. Coloque las muestras en tubos de ensayo sin anticoagulante (tubos de ensayo con tapón rojo).
 - 3.5. Rotule cada tubo con la fecha y hora, sitio de la recolección, nombre de las partes y el nombre de la persona que lo recolectó.
 - 3.6. Embale, rotule y lacre cada tubo en un sobre de papel manila de tamaño apropiado, indicando claramente que el sobre contiene un tubo de ensayo con sangre.
 - 3.7. Transporte el indicio al laboratorio de hematología forense.

5.3.3.6. Recolección de muestras de sangre en personas.

Procedimiento.

1. La toma de muestras para comparación o análisis a las personas involucradas en un proceso penal idealmente deben realizarse en las

secciones de Bioquímica del laboratorio, en el caso de zonas rurales y horas no hábiles, se debe solicitar la colaboración de toma de muestra al Centro de Salud más cercano que se encuentre abierto. Las muestras quedarán bajo custodia de las autoridades judiciales hasta su envío al laboratorio de hematología forense.

2. Las muestras de sangre SOLAMENTE deben ser tomadas por personal calificado para este tipo de procedimientos, a partir de la punción venosa, en la medida de lo posible y según se indica a continuación.
3. Solicite a la persona la cédula de identidad (nacionales) o alguna identificación (pasaporte para extranjeros), y anote en la solicitud de Dictamen Criminalístico; nombre y apellidos de la persona, cédula de identidad o número de identificación, la fecha y la hora, así como el nombre de quien toma la muestra.
4. Si la persona no porta identificación, se consignará en la solicitud y se le tomará una huella digital de los dedos pulgares e índices, de acuerdo con la técnica recomendada por el Archivo Criminal. Dentro de lo posible tome una fotografía que se incluirá en la misma solicitud. Además se indicará el nombre completo que la persona dice tener.
5. Para el análisis de ADN se puede utilizar cualquiera de los siguientes tubos: con anticoagulante EDTA (tapón morado), o bien con ácido cítrico y dextrosa (tapón amarillo). Envíe un tubo con 5-8 ml de sangre como mínimo.
6. Si la persona se niega a la extracción de la muestra, se anota en la misma "Solicitud de Dictamen Criminalístico" una observación que así lo indique. Se le pide al paciente que firma la nota de su negativa. Si se niega también a firmar se anota además que la persona no quiso firmar. Se anotarán además la fecha en que la persona no quiso firmar. Se anotarán además la fecha y la hora, así como el nombre, apellidos y número de cédula de otra persona, quien firmará como testigo de la negativa.
7. En las situaciones en que el paciente se niegue a la toma de la muestra o suministrarla **NO SE DEBE EJERCER NINGUN TIPO DE PRESION O**

PERSUASIÓN. Es recomendable en la medida de lo posible comunicarse con el fiscal o Juez para informarle del caso. Asimismo, SE DEBE PROCEDER según lo estipulado en el "Manual de Procedimientos para la contención, conducción e intervenciones corporales de detenidos" (publicado en el Boletín Judicial No 107 del 5 de junio de 2002, circular No 50-2002, según acuerdo del Consejo Superior del Poder Judicial, sesión No 35-02, del 21 de mayo del 2002, artículo XCI).

8. Si no se presentan inconvenientes se procede a la toma de la muestra de sangre. Con la persona preferiblemente sentada, limpie la piel con un algodón impregnado con alcohol al 70%. Se procede a la extracción de la sangre por punción venosa en la vena cefálica, basílica o cubital media.
9. Rotule cada tubo con los siguientes datos; fecha, hora, número de caso, nombre de la persona a la que se tomó la muestra, análisis solicitado y en el caso que se desee determinar la hormona gonadotropina coriónica (prueba de embarazo) se debe anotar la fecha de la última menstruación.
10. Cualquier incidente durante la toma de muestras deberá ser anotado en el apartado de Resumen del caso o de los hechos acontecidos en la solicitud de dictamen criminalístico.
11. Luego de la venopunción, pida a la persona doblar el brazo con el algodón prensado en el punto de punción y mantenerlo así por unos diez minutos. Devuelva la identificación si la aportó. Embale los tubos y adjunte la solicitud de Dictamen Criminalístico debidamente llena, al embalaje externo. Transporte en cadena de frío lo antes posible. NUNCA CONGELE estas muestras.
12. Si la persona está internada en un hospital o clínica consciente o inconsciente, pida una autorización firmada en la misma solicitud al médico encargado del paciente para la toma de la muestra o muestras.
13. Envíe cuanto antes esta muestra al laboratorio de hematología forense.

5.3.3.7. Ejemplos de levantamiento de sangre más comunes.

- 5.3.3.7.1. **Sangre Líquida.** En este caso deberá tomarse con ayuda de un gotero o pipeta y se deposita dentro de un tubo de ensayo o frasco perfectamente limpio y seco, luego añadir por cada 5 cm cúbicos de sangre, 1 cm cúbico de suero fisiológico o solución salina (8.5 gr. de sal en un litro de agua).
- 5.3.3.7.2. **En coágulos.** En este supuesto se puede tomar con un palillo de madera e introducir en cualquiera de los recipientes adecuados con solución salina.
- 5.3.3.7.3. **Manchas de sangre seca.** Estas se levantan con pedacitos de tela de aproximadamente 2x2 centímetros, humedecidos con solución salina y se va frotando o limpiando para ir extrayendo la mancha e impregnándola en la tela, con una telita similar se talla en la misma superficie pero sin sangre, que habrá de servir como testigo.
- 5.3.3.7.4. **Mancha sobre tela.** Cuando este sea el supuesto, se procurará recortar en cuadros de aproximadamente 2x2 cm. de tela, recortando otro de un lugar que no esté manchado para que sirva como testigo.
- 5.3.3.7.5. **Sangre sobre tierra o arena.** Para recolectar esta sangre deberá recolectarse la parte completa con una palita o espátula y se deposita en una caja evitando que esta se bata. Por separado debe llevarse una muestra de la tierra donde se encontró la sangre.
- 5.3.3.7.6. **Sangre impregnada en cabellos.** Esta se recolecta con pinzas y se coloca en un sobre pequeño o bien en bolsas de plástico para enviarlas al laboratorio.
- 5.3.3.7.7. **Manchas de sangre sobre el cuerpo de la víctima** cuando se sospecha que no sea de ésta. Estas se toman de la misma forma que las manchas de sangre seca, pero además debe tomarse una muestra de la sangre de la víctima para efectos de comparación.

6. TECNICAS DE ORIENTACION PARA LA IDENTIFICACION DE POSIBLES MANCHAS DE SANGRE ENCONTRADAS EN EL LUGAR DE LOS HECHOS.

6.1. Metodología general para la investigación criminalística de las manchas de sangre.²³

El estudio forense de manchas de sangre plantea dos problemas igualmente importantes: uno desde el punto de vista de la criminalística de campo, con fines reconstructivos de un hecho delictivo; el segundo, identificativo, que resuelve la hematología forense, a través de las técnicas de orientación y confirmación, apegado esta recopilación de información a las primeras. Para resolver la parte de la criminalística de campo, se atiende a la morfología de las manchas en el sitio del ilícito, indicándonos los movimientos de la víctima y/o del victimario. Al llegar al lugar de los hechos, que deberá reservarse para conservar su originalidad, se fijara, siguiendo la metodología criminalística rutinaria, para poder, después de la observación, efectuar una interpretación correcta de la dinámica del hecho; fijación que deberá seguir los siguientes pasos:

1. Tomar las fotografías necesarias, desde diferentes ángulos.
2. Describir la escena con claridad y sencillez, tomando medidas que se relacionaran con las paredes o puertas, nunca con objetos móviles. Dibujar un croquis sencillo.

6.2. Técnicas de orientación.²⁴

La hematología forense en el estudio de la sangre utiliza también un método científico para comprobar sus hipótesis a través de la experimentación. Así se tiene que las técnicas de orientación tendrán como finalidad el guiarnos en un análisis preliminar si la materia o sustancia de estudio es sangre o no, para que

con posterioridad y atendiendo a los resultados obtenidos se pueda recurrir a las técnicas de confirmación.

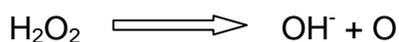
- 6.2.1. Reacción de la Bencidina o de Adler.
- 6.2.2. Reacción de la O-toluidina.
- 6.2.3. Reacción de la fenolftaleína reducida.
- 6.2.4. Reacción de la leuco malaquita verde.
- 6.2.5. Técnicas espectroscópicas.
- 6.2.6. Técnicas de Luminol, para detectar manchas lavadas y decoloradas.

En el Distrito Federal de las técnicas de orientación antes señaladas la que se usa con más frecuencia es la reacción de la fenolftaleína reducida. Esta técnica de reacción de la fenolftaleína, se basa en el mismo principio químico de la reacción de la Bencidina con algunas particularidades. Las peroxidasas sanguíneas son catalasas, que poseen actividad enzimática en las reacciones de oxidación, ya que tienen la propiedad de descomponer el peróxido de hidrógeno u otros peróxidos orgánicos, produciendo liberación de radicales de oxhidrilo. Esta capacidad enzimática se encuentra en grupo hem de la hemoglobina.²⁵

6.2.1. REACCION DE LA BENCIDINA O DE ADLER.

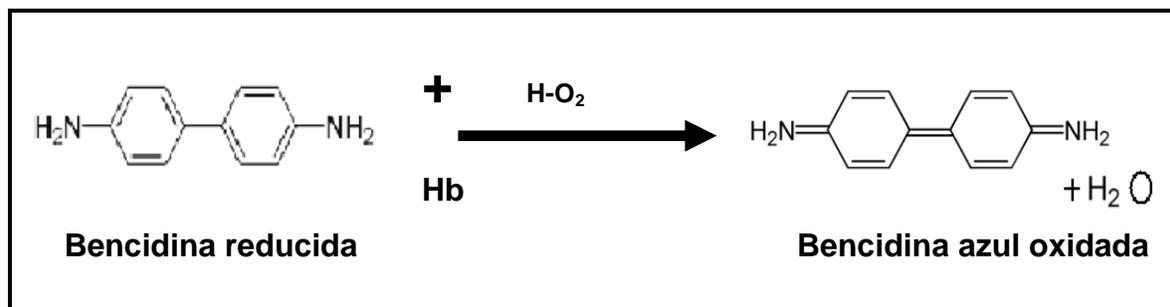
Fundamento químico.

Las peroxidasas sanguíneas son catalasas que, como su nombre indica, poseen actividad catalítica (enzimática) en las reacciones de oxidación, ya que tienen la propiedad de descomponer el peróxido de hidrogeno u otros peróxidos orgánicos, produciendo liberación de radicales oxhidrilo según la siguiente reacción:



El grupo hem de la hemoglobina posee esa actividad enzimática, que puede catalizar la ruptura del peróxido de hidrogeno. Mientras no estén presentes otras sustancias orgánicas oxidantes, esta actividad de la hemoglobina, descompone el peróxido de hidrogeno en agua y oxigeno, que al reaccionar con la bencidina la oxidaran formando un compuesto intensamente azul.²⁵

Cuadro No. 1. Reacción de la bencidicina.²⁵



Reacción de la bencidina o de Adler.

La oxidación de la bencidina es utilizada como prueba presuntiva para la identificación de sangre. Esta prueba es muy sensible, se considera que es efectiva para concentraciones de sangre de 1/300000 a 1/500000. Un resultado negativo excluye la presencia de sangre; si la reacción es positiva, requiere como toda técnica de orientación, del empleo de reacciones de confirmación ya que se pueden obtener falsas reacciones positivas con otras sustancias que tengan actividad semejante a la de las peroxidasas o bien con otros materiales oxidantes.²⁵⁻²⁶

Tabla no. 1. SUSTANCIAS QUE POSEEN ACTIVIDAD SEMEJANTE A LAS PEROXIDASAS ²⁶

PLANTAS	PRODUCTOS BIOLÓGICOS	OTRAS SUSTANCIAS
Manzanas	Medula Ósea	Herrumbre
Albaricoque	Leucocitos	Formol
Espárragos	Tejido cerebral	Estiércol
Frijol	Líquido espinal	Sulfato de cobre
Acelgas	Intestino	Dicromatos
Remolacha	Hígado	Permanganato de potasio
Zarzamora	Pulmón	Algunos blanqueadores
Alcachofa	Saliva	
Papa	Moco	
Nabo	Pus	

Estas sustancias poseen una actividad enzimática semejante a las peroxidases, por ello pueden dar un resultado falso positivo en la reacción de la bencidina, y también en otras técnicas de orientación.²⁶

Preparación del reactivo.

a) Solución de bencidina: 0.25g de bencidina se disuelven en 175mL de etanol y se añaden 5 a 10 gotas de ácido acético glacial. Se guarda en un frasco gotero ámbar, en refrigeración en tanto no se usa.

b) peróxido de hidrógeno al 3%; también en frasco gotero ámbar

Procedimiento.

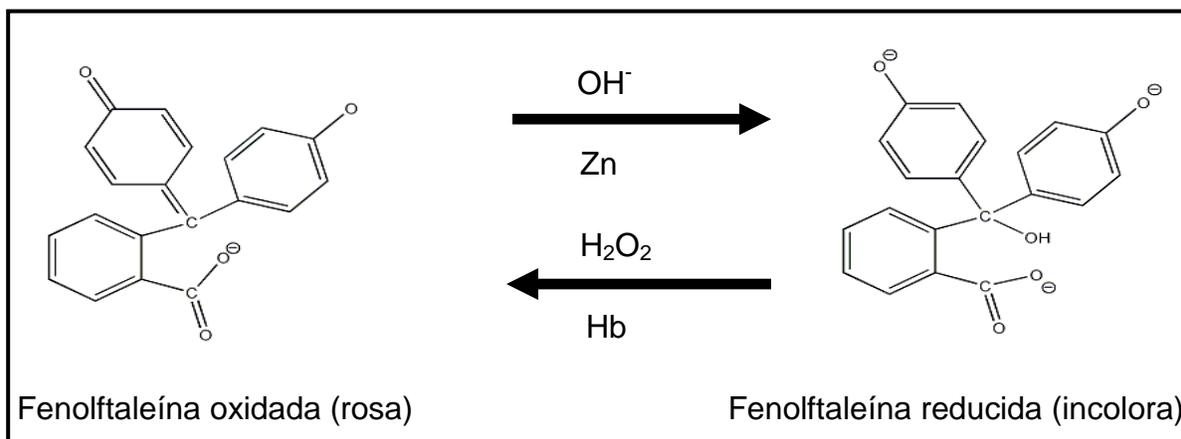
1. Humedecer un hisopo con agua destilada y frotarlo sobre la mancha problema.
2. Añadir al hisopo 1 ó 2 gotas de disolución de bencidina y después de unos momentos de observar que no de coloración con esta disolución, poner la misma cantidad de peróxido de hidrogeno (H_2O_2) sobre el hisopo.
3. En caso positivo aparecerá rápidamente una coloración azul.

6.2.2. REACCION DE LA FENOLFTALEINA O DE KASTLE-MAYER.²⁷

Fundamento químico.

Esencialmente la rige el mismo principio que se señaló para la reacción de Adler:

Cuadro no. 2. Reacción de la fenolftaleína.²⁷



Reacción de la Fenolftaleína.

La diferencia estriba en que:

- a) La fenolftaleína debe ser reducida previamente a fenolftaleína incolora y este reactivo, por su labilidad, debe ser guardado en refrigeración en frascos ámbar.

- b) Se trabaja en medio alcalino en vez de en medio ácido.
- c) Se efectúa un calentamiento previo a 100°C durante un minuto.

Se apuntará a continuación el comportamiento de las peroxidasas vegetales, que explicará el porqué de las modificaciones apuntadas:²⁸

1. **Termolabilidad:** se ha confirmado que todas las peroxidasas vegetales se inactivan por calentamiento a 100°C. A la misma temperatura las peroxidasas de origen animal son estables. Un periodo corto de calentamiento (un minuto a 100°C) servirá para diferenciar una de otra.
2. **Tiempo:** Las peroxidasas de origen animal son muy estables; las manchas de sangre humana dan resultados positivos aun después de varios meses de haberse producido. Cuando manchas de la misma edad pero de origen vegetal son tratadas de esta manera, dan resultado negativo.
3. **pH:** Las peroxidasas de las plantas reaccionan en medio ácido, pero no en medio alcalino. Por esta razón la técnica de Kastle-Mayer es más confiable. A pesar de esto deben efectuarse pruebas testigo sin añadir agua oxigenada a muestras previamente calentadas a 100°C, aun así sigue siendo solo una técnica presuntiva.

Esta técnica de la fenolftaleína reducida es más sensible que la de la bencidina, siendo esta sensibilidad de 1/1000000 a 1/10000000.²⁸⁻²⁹

Preparación del reactivo.

- a) Disolución de fenolftaleína:

Fenolftaleína	2g.
Hidróxido de potasio	20g.
Agua destilada	100mL.
Polvo de zinc	20g.

Disolver estas sustancias y colocarlas a reflujo con el polvo de zinc hasta una completa decoloración. Esta solución madre deberá guardarse en un frasco ámbar en refrigeración y deberá añadirse polvo de zinc.

- b) Disolución de trabajo: Diluir la solución madre en etanol en la proporción de 1:5; la que también deberá refrigerarse en tanto no se use.
- c) Disolución de agua oxigenada al 3%.

Procedimiento.

1. Humedecer un hisopo con solución salina, frotar la muestra problema y pasarlo a un tubo de ensayo con 2mL de la misma disolución, calentar un minuto a 100°C, añadir unas gotas de reactivo, esperar unos segundos y agregar agua oxigenada. Es caso positivo se obtendrá una coloración rosa brillante.³⁰

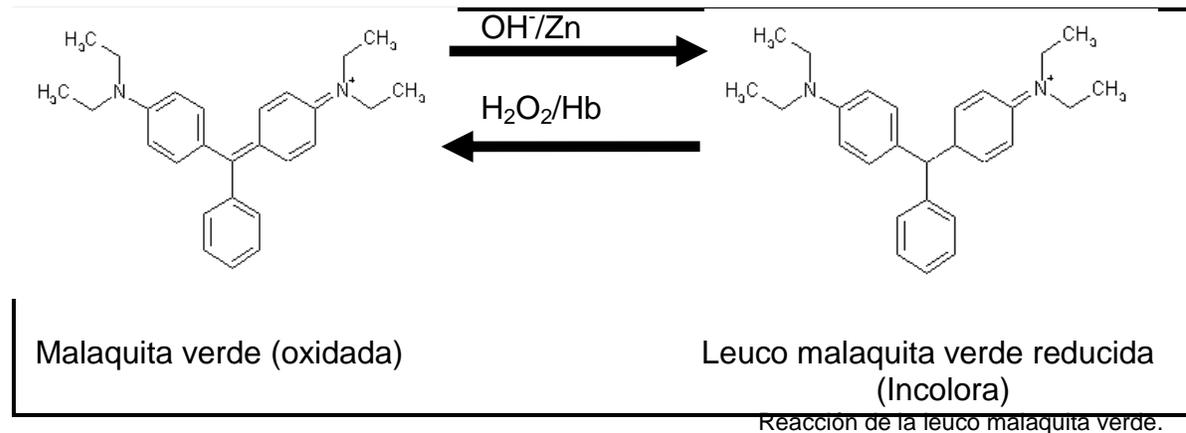
6.2.3. REACCIÓN DE LA LEUCO MALAQUITA VERDE.³¹

Fundamento químico.

Se basa al igual que las anteriores en una reacción de oxidación y reducción.

La estructura química de esta sustancia recuerda a la de la fenolftaleína. El prefijo “leuco” se refiere a la forma reducida incolora; la forma leuco puede ser preparada por reducción de la malaquita verde.

Cuadro no. 3. Reacción de la leucomalaquita verde³¹



Como en el caso de la fenolftaleína, la forma leuco puede ser oxidada por la acción de las peroxidasas para dar la forma oxidada verde. Esta técnica fue reportada por Hunt, quien señala que la encontró más confiable para sangre, aunque menos sensible que la de la bencidina.

Preparación del reactivo.

- Se prepara una mezcla sólida que contenga: 0.32 g de perborato de sodio y 0.10 g de malaquita verde; se mezclan perfectamente y se guardan en frasco ámbar. Esta mezcla dura un año sin perder su estabilidad.
- El disolvente se prepara diluyendo 6.6 mL de ácido acético glacial en 3.3 mL de agua destilada.

c) Preparar el reactivo de trabajo, inmediatamente antes de usarlo, disolviendo la mezcla solida a) en la disolución b). Si en el reactivo recién preparado llegara a observarse la más leve coloración verde, no deberá ser usado.

Procedimiento.

La mancha sospechosa, se levanta con un hisopo humedecido en agua destilada y se le agregan unas gotas del reactivo recientemente preparado.

En caso positivo se observara una coloración verde.

6.2.5. TECNICAS ESPECTROSCOPICAS.³²

Estas técnicas permiten poner de manifiesto, mediante espectros de absorción, la presencia de hemoglobina y/o de alguno de sus derivados en manchas de sangre.

La hemoglobina diluida en agua (oxihemoglobina) tiene dos bandas de absorción en la zona del espectro visible cuyos máximos se encuentran a 575 y 540 nm. Respectivamente; así como la banda de Soret, típica de los derivados porfirinicos, próxima a la región del ultravioleta, que para la hemoglobina se encuentra a 412 nm, siendo esta banda mucho más ancha que las dos primeras. En la investigación criminalística, no es suficiente con obtener el espectro de la oxihemoglobina, sino que es necesario someter la muestra a una marcha espectral. Algunos autores (J. A. Gisbert Calabuig) señalan lo siguiente:

- a) Se extrae la mancha de sangre con agua destilada, se filtra y se lleva a un espectrofotómetro ultravioleta visible de doble haz, que permita realizar un barrido espectral con registro gráfico; la hemoglobina así estudiada registra bandas de absorción a 575, 540 y 412 nm.
- b) La muestra anterior se alcaliniza con hidróxido de potasio y se le añaden unas gotas de piridina, la solución toma un color verde que corresponde a la hematina alcalina. En el espectro se observara que desaparecen las bandas anteriores y se obtendrá en cambio una banda a 600nm.

- c) Posteriormente, y a ese mismo tubo, se añaden unas gotas de un reductor como el sulfhidrato de amonio recientemente preparado, formándose así el Hemocromógeno, con el que se registran bandas de absorción con máximos a 559 y 530 nm.

En la práctica forense cotidiana en el laboratorio de la Procuraduría General de Justicia del Distrito Federal, se ha comprobado que una mancha es de sangre con una metodología espectroscópica mucho más simple y rápida procediéndose como sigue: ³³

1. Impregnar un pequeño trozo de 5 x 5 mm de tela limpia, sin apresto, de color blanco con la muestra problema.
2. Colocar la muestra así obtenida en un tubo de ensayo y añadirle 5 mL de agua destilada, dejándola reposar durante 10 min para lograr una eficiente extracción; pasado este tiempo filtrar.
3. Efectuar el barrido espectral en la zona del espectro visible, se obtendrán tres bandas de absorción: dos finas a 575 y 540 nm y una banda ancha a 412. Este espectro corresponde a la oxihemoglobina.
4. Efectuar nuevamente la extracción de la muestra problema como se indica en el segundo punto, pero utilizando en vez de agua destilada, 5 mL de una disolución de ferrocianuro de potasio al 0.5%. Al realizar el barrido espectral en la región del visible, se obtendrá una banda a 630nm banda que corresponderá a la metahemoglobina.
5. Sobre la misma celda de muestra añadir unos gránulos de cianuro de potasio; al efectuar el registro espectroscópico, deberá desaparecer la banda de la longitud de onda correspondiente a 630 nm y se obtendrá una banda a 540nm debida a la formación de la cianometahemoglobina.
6. Para realizar estas experiencias se utilizo un espectrofotómetro ultra violeta-visible, modelo DK-2^a de doble haz y provisto de monocromador.

6.2.5 TECNICA DEL LUMINOL.

El luminol químicamente denominado como: 3-amino-ftalhidracina (5-amino-2,3-dihidro-ftalacino-1,4-diona) fue sintetizado por Smicthz en el año de 1902, comprobando a la vez, que esta sustancia produce una brillante quimioluminiscencia (producción de luz por una reacción química: Una fuerte luz fluorescente azul en disoluciones acidas con pH menor de 7).³⁴⁻³⁶

Posteriormente en el año de 1927 otro investigador de apellido Lommel, observo dicha quimioluminiscencia después de la oxidación del compuesto en medio alcalino (disoluciones con pH mayor de 7). En 1934 el investigador Albrecht denominó a este compuesto luminol, por las propiedades quimioluminiscentes que presentaba. Además descubre que la reacción quimioluminiscente se da en presencia del peróxido de hidrogeno. En 1936 Gleu y Pfannstiel descubrieron que el luminol presentaba luminiscencia en presencia de sangre, esto es debido a la capacidad peroxidásica de la hemoglobina. En el año de 1937, se reportó la primera aplicación forense del luminol, como prueba presuntiva de detección de sangre, dicho ensayo fue realizado por Walter Specht. Este investigador roció sangre en varios sustratos como en piedras, gradas, paredes y tierra, dejándola expuesta por 14 días a las condiciones ambientales, seguidamente aplico el luminol y fotografió los resultados. Todas las áreas que contenían manchas de sangre presentaron luminiscencia que perduró por 15 minutos. En esta ocasión el luminol funcionó bien con manchas de sangre fresca y vieja, se observó mayor respuesta quimioluminescente en las manchas de sangre viejas, que en las manchas frescas o nuevas.³⁷

En el año de 1939, los investigadores Moody y Proescher, basándose en la investigación de Specht, aplicaron el luminol en papel, tela y piezas de hierro que contenían manchas de sangre de tres años de antigüedad, obteniendo resultados satisfactorios.³⁸

En 1942 McGrath, recomendó el uso de la prueba de luminol, para la detección de sangre, el notó que las manchas de sangre viejas daban respuestas más fuertes y

prolongadas, debido a que en estas hay una mayor concentración de metahemoglobina y hematina. Los investigadores Lytle y Hedgecock, en el año de 1978 estudiaron los efectos del Luminol en solución alcalina, en la sangre detectada por la prueba, concluyendo que no afectaba la actividad enzimática de los eritrocitos, pero no reportan los efectos del reactivo en la determinación de grupo ABO en las manchas, ni análisis de marcadores genéticos (ADN). La prueba de luminol es extremadamente sensible en la detección de sangre. En 1986 Thornton y colaboradores detectaron luminiscencia a simple vista, proveniente de sangre que fue diluida 1:10000 partes.³⁹

Fundamento de la prueba del Luminol.⁴⁰

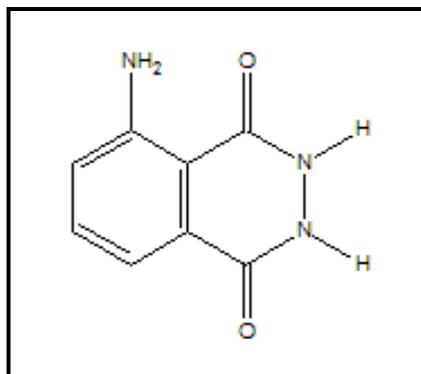
La prueba de luminol emplea:

El carbonato de sodio para crear una solución alcalina de pH de 10.4 a 10.8, Perborato de sodio como agente oxidante, y el luminol como la sustancia a ser oxidada con la subsecuente emisión de luz. La sangre es el sistema peroxidasa que cataliza la reacción,

Reactivos utilizados para la prueba de Luminol.

1. Carbonato de sodio
2. Perborato de sodio trihidratado.
3. Luminol.

Cuadro no 4. Estructura del luminol.⁴¹



Preparación del reactivo.

1. Pesar 3.5g de Perborato de sodio en una balanza analítica, y agregarlo en un matraz de 1L.
2. Pesar 25g de carbonato de sodio y 0.5g de Luminol en una balanza analítica y colocarlos juntos en un recipiente limpio.
3. Medir 500mL de agua destilada y agregarlos al matraz que contiene los 3.5g de perborato de sodio.
4. Agitar hasta disolver por completo.
5. Agregar a esta disolución la medida de carbonato de sodio y Luminol.
6. Agitar hasta disolver por completo.
7. Verter la disolución disuelta en el atomizador.

Como se aplica la prueba.⁴³

- a) Antes de la aplicación del reactivo el personal debe vestir prendas que lo protejan del contacto directo con el luminol. Es imprescindible la utilización de mascarillas que impidan la inhalación del atomizado.
- b) Se debe procurar una completa oscuridad para la aplicación del reactivo. Aplicar el reactivo por aspersion, en las zonas del escenario en donde se sospecha la presencia de sangre.
- c) En un lapso no menor de 10 segundos debe aparecer una reacción lumínica que evidencia la actividad peroxidasa que posee la sangre entre otras sustancias.
- d) Después de localizar los diferentes focos lumínicos se deben a la presencia de sangre (manchas de color y aspecto característico), se debe delimitar el área de reacción positiva con cinta adhesiva o con un marcador a base de agua, esto con el objetivo de facilitar el levantamiento de muestra y el registro fotográfico.

e) **Cuidados para la aplicación de la prueba.**⁴³

1. Procurar en la medida de lo posible no entrar en contacto directo con la sustancia. Es necesario asegurarse de que todo el personal presente este debidamente protegido.
2. La vida media del luminol ya preparado es de 8 hrs. Por lo que debe tenerse la precaución de no exceder este tiempo en su aplicación.
3. La prueba de luminol es presuntiva para detectar la presencia de sangre, esto significa que requiere de otras técnicas como la determinación de especie para determinar la presencia de sangre.
4. El luminol no es corrosivo y no mancha.
5. Se ha observado que no tiene efectos destructivos e inhibitorios sobre la sangre, permitiendo la realización de análisis posteriores.
6. Una desventaja de esta técnica es que por ser basada en la actividad peroxidasa y estar presente en muchas sustancias tales como ciertos metales, jugo de fruta, detergentes y productos de limpieza en general es común obtener reacciones inespecíficas.
7. Antes de la aplicación de la prueba se debe realizar un ensayo previo con controles positivos, falsos positivos y negativos para evaluar la efectividad del reactivo.
8. El reactivo del luminol muestra una alta sensibilidad ante la presencia de sangre, se observan reacciones positivas en muestras diluidas, hasta diez mil veces y capaz de detectar manchas hasta con 25 años de antigüedad.

7. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA RESUELTO.

La criminalística no ha sido bien difundida en nuestra sociedad por lo que trae problemas a los laboratorios de criminalística la falta de información en el cuidado de los indicios encontrados en un crimen, esto entorpece las pruebas que llevarán a identificar al o los culpables. Los indicios en la escena del hecho delictivo constituyen una parte fundamental para la construcción de una imputación de carácter criminal, ya que se trata de “testigos mudos” que nos proporcionan la verdad de lo sucedido. Para lograr dicho fin, los indicios deben ser manejados y estudiados por personal altamente especializado, siendo recomendable que los responsables que se constituyan en la escena del delito tengan sumo cuidado en seleccionar los indicios hallados (tipos, cantidades, embalajes, transportación, etc), uno de los indicios orgánicos más frecuentemente encontrados son *las manchas de sangre*, por lo que es importante la identificación correcta de éstas, existen diversas pruebas de orientación, pero no todas facilitan el tiempo y recursos materiales, en la obtención de resultados rápidos y confiables. No existen escritos de tales técnicas de manera conjunta en México, por lo que se realizó una revisión bibliográfica de las técnicas de orientación para identificación de manchas de sangre más utilizadas en los laboratorios de química forense durante los últimos 6 años, encontrándose que la técnica ideal de orientación fue la de Luminol, esta permite proporcionar resultados que se transformaran posteriormente en pruebas indiciarias para sustentar la forma y circunstancias en que se perpetró el hecho delictivo.

8. JUSTIFICACIÓN

En el ámbito de la química legal, específicamente la hematología forense, los peritos se enfrentan a diversos problemas durante la recolección e identificación de muestras en este caso de posibles manchas de sangre en el lugar de los hechos de un suceso criminal, por ello el estudio de dichas manchas es fundamental para el esclarecimiento de un acto violento lo cual no siempre se realiza porque se desconoce y/o no hay suficiente información al respecto desde una mala toma de muestra, hasta las técnicas de orientación ideales para la identificación de éstas ,en si la falta de información completa sobre este tema.

Abordar esta temática permitiría ahorrar tiempo a los peritos dedicados al esclarecimiento de un crimen y así podrían utilizar esta información como herramienta de trabajo.

9. IMPORTANCIA DEL ESTUDIO

La recopilación de la información sobre las técnicas de orientación de identificación de manchas de sangre más utilizadas y eficaces sobre este fluido biológico en el ámbito de la criminalística actual, mostraran al lector una visión general y veraz de la hematología forense utilizada en México.

10. OBJETIVOS GENERAL.

- Elaborar una recopilación bibliográfica de los últimos 6 años sobre cuáles son las técnicas de orientación utilizadas en un análisis previo a la identificación de posibles manchas de sangre encontradas en el lugar del hecho delictivo.

OBJETIVO PARTICULARES.

- Realizar una investigación bibliográfica sobre la forma correcta de la fijación, recolección y levantamiento de las posibles manchas de sangre, como un indicio encontrado en el lugar de los hechos delictivos.
- Realizar una investigación bibliográfica comparativa de las diferentes técnicas de orientación aplicadas en la identificación de posibles manchas de sangre, logrando obtener la más factible para el estudio dentro de la hematología forense.

11. METODOLOGIA.

TIPO DE ESTUDIO / DISEÑO DE LA INVESTIGACION: Monográfica.

12. RESULTADOS.

No se tiene conocimiento exacto de cuándo se aplicaron por primera vez los conocimientos criminalísticos en la resolución de los delitos. El término criminalística es aplicado por primera vez en la provincia de Graz, Australia, en 1894 por el juez de introducción Hans Gross, quien reunió y aportó conocimientos muy valiosos para ser aplicados en la pesquisa criminal. La actualización del criminalista y de los servicios periciales en general, está fundada de acuerdo a la investigación realizada de los últimos 6 años en la legislación debido a que brindan apoyo a los órganos encargados de impartición de justicia. La criminalística, como todo conjunto de conocimientos cuya aplicación tiende a un fin, posee una metodología basada en las ciencias naturales. Se entiende por metodología científica, el conjunto de procedimientos que permiten llegar al conocimiento de la verdad objetiva en el campo de la investigación científica. De acuerdo a la revisión bibliográfica todo llegaba a que su objeto material es la actividad cognoscitiva del hombre en la esfera de las ciencias y su objeto formal es la adecuada ordenación de dicha actividad para la obtención de la verdad. También logramos saber que la criminalística esta clasificada según el lugar donde se realice la investigación puede ser:

1. De campo: es la disciplina que emplea diferentes métodos y técnicas con el fin de observar, fijar, proteger y conservar el lugar de los hechos. Se encargarse de la colección y embalaje de los indicios relacionados con los hechos que se investigan, para posteriormente realizar un examen minucioso. Dada la evolución científica de la investigación criminal, debe darse mayor atención al lugar del hecho o del hallazgo para localizar, recuperar y documentar evidencias que, posteriormente, serán examinadas por peritos en los laboratorios forenses, ya que la habilidad del laboratorista para proporcionar interpretaciones científicas depende de gran medida de un trabajo eficiente del equipo investigador de campo, el cual tiene que

estar bien adiestrado, coordinado y debidamente provisto de los implementos y utensilios necesarios para una recolección adecuada de las evidencias.

2. De laboratorio: es la parte de la criminalística que utiliza todos los métodos y técnicas de laboratorio para el estudio, análisis e identificación de los indicios encontrados en el lugar del hecho. La criminalística de laboratorio tiene sus inicios en 1960 al fundarse en Francia el primer laboratorio forense por Edmund Locard. Desde entonces y hasta la fecha, han sido instalados en todo el mundo diferentes tipos de laboratorios con características y funciones muy especiales, los cuales dependen tanto de los recursos económicos del país como de los delitos que se investiguen. Existen los muy sofisticados y completos, como los de la policía científica y técnica francesa y los de la oficina federal de inteligencia norteamericana FBI, después a expertos de diversas áreas científicas por indicación de su primer director J. Edgar Hoover, logró integrar un laboratorio específico de ciencias forenses que inició sus trabajos en 1932 y es, a la fecha, uno de los más reconocidos en el mundo. En cualquier parte del mundo, los laboratorios forenses están organizados dependiendo del potencial económico del país, así como de sus necesidades, pero siempre considerando que cada indicio encontrado en el lugar de los hechos requiere su traslado al laboratorio para su estudio con el propósito de lograr su identificación, clasificación, comparación y su relación con el hecho. Por lo que será necesario contar con áreas específicas, personal altamente calificado y equipo moderno para aportar elementos suficientemente científicos en la investigación.

Uno de los indicios más importante y el más encontrado en un delito son las manchas de sangre, por lo que se abordó este indicio específicamente. Es considerada como un indicio orgánico que constituye la base del estudio de la hematología forense que se deriva a la hematología identificadora, esta área estudia las manchas de sangre desde los mecanismos de su producción, su

forma, extensión, situación, tamaño, color, aspecto, cantidad y orientación. Es necesario tener seguridad sobre las técnicas de orientación que nos probaron la identificación de la sangre, hay una gama de técnicas utilizadas para este fin, sin embargo las que han proporcionado mejores resultados hasta la fecha son: reacción de la Bencidina o de Adler, reacción de fenolftaleína, reacción de la leucomalaquita verde, técnicas espectroscópicas y la técnica de luminol. Se han estudiado la fiabilidad de estas pruebas sobre muestras que se han contaminado, como consecuencia de la contaminación, se obtienen falsos resultados tanto positivos como negativos, comprobándose que el reactivo más fiable es el luminol,

13. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

Las técnicas de orientación que se aplican por los peritos en el laboratorio de hematología forense, siempre se utilizan como pruebas presuntivas para la identificación de posibles manchas de sangre que se encuentran en el lugar de los hechos, todas poseen ventajas y desventajas que varían dependiendo de su sensibilidad, tomando en cuenta que un resultado negativo excluye la presencia de sangre y si la reacción es positiva, requiere como toda técnica de orientación, del empleo de pruebas de confirmación, ya que se pueden obtener resultados falsos positivos.

Estas técnicas de orientación comprenden las reacciones de la bencidina, de la fenoltaleína reducida, de la leuco malaquita verde, y la prueba del luminol que se utiliza para detectar manchas lavadas y decoloradas; todas estas técnicas se basan en que las peroxidasas sanguíneas poseen una actividad enzimática en las reacciones de oxidación, ya que tienen la propiedad de descomponer el peróxido de hidrogeno, liberando radicales oxhidrilo; esta capacidad enzimática se encuentra en el grupo hem de la hemoglobina.

De acuerdo con las investigaciones de Negrete y Castello, el éxito de la investigación dependerá, en gran medida, de las técnicas que permiten la detección y el estudio previo de la muestra, por lo tanto las manchas de sangre son un motivo de estudio de la hematología forense que están sujetas a muchas condicionantes como son: el tiempo desde que se produjo, su posible estado de putrefacción o de calcinación, o también la mezcla con otras sustancias; por ejemplo, al intentar limpiar la mancha se puede haber utilizado cualquier sustancia que altere las características de la misma. Existen otros factores de origen físico-químico que se deben tener en cuenta ya que las técnicas estudiadas tienen como fundamento diferentes reacciones químicas, que están a su vez sujetas a distintas variables como: la temperatura, pH del medio, concentración, velocidad de la reacción, etc., de forma que, una reacción que en determinadas condiciones se produce según un mecanismo conocido, si se varían algunos factores, se puede

alterar de tal forma que nos dé resultados no esperados, conduciendo a falsas conclusiones. Los diferentes métodos propuestos han ido intentando eliminar todos estos problemas. En cualquier caso, en las pruebas de orientación, e independientemente del método utilizado, el resultado positivo es poco valorable, puesto que hay sustancias que pueden dar este resultado sin ser sangre.

Empezando por la reacción de la bencidina, es el método más utilizado de los aquí descritos y desde que fue propuesto, ha estado sometido a diferentes modificaciones que afectan tanto a los reactivos empleados como a la técnica que se utiliza en su aplicación.

Actualmente, se sabe que la bencidina puede ser peligrosa debido a su poder cancerígeno, es por esto que algunos autores recomiendan que se sustituya por la O-Tolidina, que es un derivado de la bencidina, pero menos cancerígeno. Estas dos reacciones poseen una sensibilidad similar que se encuentra entre 1/300000 a 1/500000.

En cuanto a la reacción de la leuco malaquita verde para que sea considerada como positiva se debe observar en menos de 10 segundos un color azul-verdoso y la sensibilidad del método es de 1/100000.

La reacción de la fenolftaleína es la más sensible de todas. Delardé y Benoit obtuvieron resultados positivos en diluciones 1/1000000, y Lambert comprobó que se producía la reacción incluso en diluciones de 1/10000000; otros autores han indicado que la sensibilidad es de 1/5000000. Por otra parte, se ha demostrado que la reacción es válida para la identificación de sangre antigua y también sangre hervida, y algunos autores indican que también da positiva las muestras que han sido sometidas a la acción de ácidos o álcalis.

Finalmente se ha observado que la prueba de luminol no tiene efectos destructivos e inhibitorios sobre la sangre, permitiendo la realización de análisis posteriores. Una desventaja de esta técnica es que por ser basada en la actividad peroxidasa y estar presente en muchas sustancias tales como ciertos metales, jugo de fruta,

detergentes y productos de limpieza en general es común obtener reacciones inespecíficas. sin embargo el reactivo más fiable es el Luminol. En una experiencia complementaria se comprobó la eficacia del reactivo sobre muestras lavadas.(Negrete y Castelló, 2007).

14. CONCLUSIONES.

- 14.1 Las técnicas de orientación son muy sensibles pero poco específicas ya que además de la sangre, existen muchas sustancias que son capaces de dar un resultado positivo al ser sometidas a las mismas, por lo que sólo se puede valorar un resultado negativo.
- 14.2 Las pruebas de orientación, tienen como objetivo el poder afirmar que la mancha que estamos estudiando no es de sangre, aunque en ningún caso permiten identificar sin lugar a dudas la naturaleza sanguínea de la misma.
- 14.3 En cualquier investigación criminalística con el fin de determinar la naturaleza de una mancha, es fundamental disponer de un método sencillo, rápido y sensible que nos permita determinar si la mancha que es motivo de estudio es o no sangre.
- 14.4 Mediante la aplicación de las técnicas de orientación, se puede determinar si la mancha que se ha encontrado en el lugar de un suceso que se está investigando no es de sangre, esto debido a que en muchas ocasiones la investigación se da por terminada, o en otros casos, no se inicie. Por ello las pruebas de orientación han sido muy estudiadas intentando eliminar las dificultades y posibles interferencias en la aplicación de los distintos métodos propuestos.
- 14.5 Existen sustancias que simulan el color de la sangre, por ejemplo, determinadas frutas y verduras, pinturas, anilinas, herrumbre, y, además, algunas de ellas contienen componentes capaces de dar un resultado positivo en los test de orientación, dando lugar a lo que llamamos un falso positivo.
- 14.6 En muestras antiguas y degradadas, bien por estar expuestas a las inclemencias del tiempo, bien por estar enterradas o sumergidas, el reactivo de elección es el luminol, aunque pierde eficacia cuando las manchas se encuentran en soportes de hierro y telas sintéticas que han estado enterradas.

PROPUESTAS.

Debido a que las técnicas de orientación son pruebas presuntivas y solo tienen el poder de afirmar que una mancha que se está estudiando no es sangre se debe recurrir forzosamente a las técnicas de confirmación para la identificación de este indicio.

Con base en esta investigación bibliográfica y debido a que en México no existen trabajos actualizados sobre este tema, se propone la utilización de las técnicas de confirmación después de las de orientación para una correcta investigación, además de posteriormente aplicar las novedosas técnicas de biología molecular por los peritos, para la individualización de las muestras de sangre que son analizadas, para un estudio completo y así ayudar a la Criminalística en el esclarecimiento de un hecho delictivo.

15. REFERENCIAS.

1. Ambriz FM. Hematología Forense. México: Editorial Porrúa; 2009.
2. Rostand J. Introducción a la historia de la biología. Editorial artemisa, México: 2007.
3. Grandwohl. Legal Medicine. Edit Francis E Camps Baltimore, 2006.
4. Baltazar V. manual de medicina legal. edit salvat 6ª edición, Barcelona: 2007.
5. DeForest P, Gaensslen R. Lee H. Forensic Science. New York: Prentice-Hall; 1983.
6. Gilman A. Ciencia Forense. México: Mc Graw-Hill; 2006.
7. Handbook of Forensic Services. Manual de Laboratorio Forense del FBI; 2003.
8. Patricia MC. Manual de Química Forense. Buenos Aires, Argentina: Ediciones la Roca; 2004
9. Martínez S. Medicina Legal. México: Méndez. 2000.
10. Villanueva E, Gisbert JA. Los indicios en Medicina Legal y Toxicología. 5ª ed. Barcelona: Salvat; 1998: 1103-27
11. McKenzie S. Hematología clínica. México: Manual Moderno; 1996
12. Murillo S. Medicina Legal. México: Méndez; 2000.
13. Quiroz A. Medicina Forense. México: Porrúa; 1986.
14. Tilstone W. J. Forensic Science: an eyclopedia of history, methods, and techniques. Santa Barbara, California: ABC-Clio; 2006
15. Gaensslen R. Sourcebook in Forensic Serology, Immunology and Biochemistry. Washington D.C: Printing Office; 2003.
16. Kirk PI. Crime Investigation. 2º edition. John Wiley & Sons. New York; 2004.
17. Knight. Medicina Forense. México: Manual Moderno; 2009
18. James SH, Eckert WG. Interpretation of bloodstains evidence at crime scenes. New York: CRC Press; 2001.

- 19.Castelló A. Revisión crítica del diagnóstico de orientación en el estudio de las manchas de sangre: falsos negativos en la prueba de Adler. Una aplicación de la Química Legal (tesis doctoral). Universidad de Valencia. E.G; 2007.
- 20.Castelló A, Álvarez M, Martínez M, Verdú F. Revelado de manchas latentes: efectividad del luminol y evaluación de su efecto sobre el estudio del DNA. España: Cuadernos de Medicina Forense; 2002.
- 21.Castelló A, Vestigios biológicos. Manchas de sangre. En Verdú Fa. (dir). Del indicio a la evidencia. Técnicas de criminalística. Comares. Granada; 2006.
- 22.Castelló A, Negre MC, Verdú Fa. Influencia del ambiente en el estudio criminalístico de muestras biológicas: el caso de las manchas de sangre. Revista Brasileira de Medicina Legal. 2004; 2(1).
- 23.Cox M. A Study of the sensitivity and specificity of four presumptive tests for blood. J. Forensic Science New York. 2009.
- 24.Eckert W, James S. Interpretation of bloodstain evidence at crime scenes. New York: Elsevier; 2008.
- 25.Lorente JA, Lorente M. El ADN y la identificación en la investigación criminal y en la paternidad biológica. Granada: Comares; 2005
- 26.Saferstein R. Forensic Science Handbook. E.U: Prentice-Hall; 2002.
- 27.Trujillo A. Medicina Forense. México: Manual Moderno; 2002.
- 28.Verdú F, Gisbert M. Investigation of bloodstains: False negative results of the Benzidine Test. Forensic Science International. 2005; 71.
- 29.Cuad med forense n 34 sevilla oct, 2003.
- 30.Gaster E, Wrxal C. Phosphatases in body fluids: the differentiation of semen and vaginal secretion.metropolitan police forensic laboratory. London forensic science (3): 2004.
- 31.Sensabaugh GF. Development of on elisa for human seminal plasma. Journal of forensic science society.(23) new york: 2003.
- 32.Williot GM. tartrate inhibitable Acid Phosphatase in semen and vaginal secretion. Journal Forensic Science. Soc. 12, 363, 2002.

33. Stone IC. Detection of Acid Phosphate by Enzymatic reaction with alpha naphthyl phosphate. Southwestern Institute of Forensic Science. Criminal Investigation Laboratory. Dallas, Texas, 2006.
34. Roy AV, Brower and Hayden. A new phosphatase substrate with greater specificity for the prostatic enzyme, 2001.
35. Gomez RR, Wunsch H. Qualitative and Quantitative Determinations of Acid Phosphatase Activity in vaginal washings. *Am. J. Clin. Path.* 64, pp. 423-432, 2005.
36. Balthazard. V. Piedelievre, R. and DeRobert L. Etude des Gouttes de Sang Projecte. Congress of Forensic Medicine. Paris. 2009.
37. Berkow, Robert, *The Merck manual*. Laboratories, 1999.
38. Bernard, Knight. *Medicina Forense de Simpson*. 2° edición, México: Manual Moderno. 1999.
39. Bevel T. *Geometric Bloodstain Interpretation*. FBI: Law Enforcement Bulletin. Office of Congressional and Public Affairs. 2003.
40. Bevel, T. and Gardner R. *Bloodstain Patterns Analysis*. E.U.; CRC. 2007.
41. Bruce Alberts, *Molecular Biology of the Cell*. Garland Publishing, 2005
42. C. H. Thienes and T. J. Haley, *Clinical Toxicology*, 5° edition. Lea & Febiger, Philadelphia, 2002.
43. Carter. L., William C. *et. al.* *Science and Legal Applications of Bloodstain Pattern Interpretation*. Washington D.C.: CRC Press. 1998
44. Castelló A, Alvarez M, Miquel M, Verdú F. Revelado de manchas latentes: efectividad del luminol y evaluación de su efecto sobre el estudio del DNA. *Cuadernos de Medicina Forense* 2002.
45. Castelló A, Verdú FA. Critical review of presumptive tests for blood stains. *Forensic Sci Communications* 2009.
46. Charles T. *Applied Police*, 2° ed. Publishing, 2007.
47. *Chemical Spot Test Kits for Preliminary Identification of Drugs of Abuse*. U. S. Dept of Justice, Law Enforcement Assistance Administration, Washington, D.C., 2008.
48. Cox M. A Study of the sensitivity and specificity of four presumptive test for blood. *J. Forensic Sci* 2009.
49. DeForest P, Gaensslen R. *Forensic Science*. New York: Prentice-Hall. 2008.

50.E. Ferner. Farmacología Forense. Pxford, 1996

51.Eckert WG, James SH. Interpretation of bloodstain evidence at crime scenes. New York: Elsevier; 2009