



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE QUIMICA**

**“ COMPONENTES DE LA SANGRE EN GENERAL  
DESDE EL PUNTO DE VISTA QUIMICO LEGAL ”**

**ALICIA ROMAN BARRIOS.**

**QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**

**1 9 8 0**

M-23539



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.

PRESIDENTE: IGNACIO DIEZ DE U.

VOCAL: EVELVINA MEDRANO DE S.

SECRETARIO: CESAR A. DOMINGUEZ.

JURADO ASIGNADO ORIGINALMENTE 1ER. SUPLENTE: GUILLERMO GONZALEZ

SEGUN EL TEMA 2º. SUPLENTE: LOURDES IRIGOYEN

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA: FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

NOMBRE DEL SUSTENTANTE: ALICIA ROMAN BARRIOS

NOMBRE DEL ASESOR: IGNACIO DIEZ DE U.

**En memoria de mi padre.**

**A ti:**

**Que al invocar tu nombre en todo momento  
me escuchaste.**

**A ti:**

**Porque de una u otra forma colaboraste en la formación de mi mentalidad que servirá al en grandecimiento de mi espíritu.**

**A ti:**

**Porque sin tu apoyo jamás hubiera logrado tener una preparación profesional. La cual representa la más preciada herencia que conservaré por el resto de mi vida.**

**Y a ti:**

**Que representas la actitud creativa y el impulso  
para el logro de los altos propósitos.**

## C O N T E N I D O .

- I. - INTRODUCCION
- II. - GENERALIDADES
- III. - TOMA DE MUESTRAS EN DIFERENTES CASOS
- IV. - ACTUACION EN EL LUGAR DE LOS HECHOS Y LOCALIZACION DE LAS MANCHAS DE SANGRE.
- V. - GUIAS PARA COLECTAR LA EVIDENCIA Y SU MANEJO.
- VI. - PROCEDIMIENTOS DE ESTUDIO Y CONSERVACION
- VII. - SELECCION DE LOS METODOS ANALITICOS MAS UTILES EN QUIMICA LEGAL.
- VIII. - PROBLEMAS QUIMICO LEGALES EN RELACION CON LAS MANCHAS.
- IX. - INVESTIGACION DE LA PATERNIDAD POR LA SANGRE.
- X. - DETERMINACION DEL ORIGEN DE ALGUNAS MANCHAS
- XI. \_ CONCLUSIONES
- XII. - BIBLIOGRAFIA

# C A P I T U L O I .

## I N T R O D U C C I O N

El objetivo fundamental de este trabajo, es el de establecer las bases teóricas y metodológicas para el estudio de las manchas de sangre, tomando en cuenta los componentes de la sangre en general desde el punto de vista químico legal.

En este país, es de gran importancia la implementación de principios químico legales que basados en el método científico, nos proporcionen elementos adecuados de investigación y de evaluación en los problemas relacionados con este campo.

Comprendiendo la necesidad antes mencionada procuré formular primeramente los aspectos teóricos del tema, para después explicar la toma de muestras, la actuación en el lugar de los hechos y la localización de las manchas de sangre, las características de las mismas según su plano de proyección, las guías para coleccionar la evidencia y su manejo, los procedimientos de estudio y conservación, -- así como la selección de los métodos analíticos más útiles en Química Legal, los problemas que se pueden presentar, las observaciones al -- efectuar este trabajo que pudiera tener una aportación significativa -- para la ciencia en algún punto relacionado con la experimentación, --

enseguida de esto incluyo, la investigación de la paternidad por la sangre, que es un problema que se nos plantea de gran trascendencia social, y pasar así a la determinación del origen de algunas manchas, y por último, exponer las conclusiones derivadas de éste trabajo.

El fin que persigue dicho estudio, es de complementar las investigaciones anteriores, que se han realizado en éste campo, -- con el propósito de reafirmar algunos principios teóricos y mejorar el instrumento técnico de la investigación, para ayuda de la justicia en la resolución de los casos enmarcados al área de su competencia.

Si la pequeña tentativa de investigación que se presenta en este trabajo es de utilidad para el químico legista, en la búsqueda de la verdad en la resolución de algún problema, nuestro esfuerzo que dará ampliamente recompensado y esto servirá de aliento para poder seguir investigando sobre este tema que es de gran importancia y -- de gran trascendencia social, ya que por medio de estas investigaciones, está en nuestra manos los posibles elementos probatorios de -- un delito o la inocencia de un acusado.

Cuando la Ciencia se pone al servicio de la Justicia, se dignifica la Ciencia y la Justicia resplandece.

## C A P I T U L O . I I .

### G E N E R A L I D A D E S

#### CARACTERISTICAS, COMPOSICION Y FUNCION DE LA SANGRE.

Cada una de las numerosísimas células vivientes que forman el cuerpo humano reciben materiales que le permiten llevar a cabo sus actividades y, al mismo tiempo, las sustancias derivadas de su actividad son excretadas y liberadas del medio. La mayor parte de las células está muy alejada de las fuentes de suministro y de los órganos de eliminación, por lo tanto, es necesaria la existencia de un medio que distribuya y recoja estos materiales. Dicha función es desempeñada por los líquidos tisulares (sangre, linfa y tejido linfático) que están formados -- por células y un líquido intercelular.

#### CARACTERISTICAS

La característica más notable de la sangre es su ya bien conocido color rojo escarlata brillante en las arterias, y rojo oscuro en las venas.

La sangre, considerada por algunos fisiólogos como un tejido, es un líquido relativamente viscoso. Su viscosidad es de cuatro veces y media a cinco y media que la del agua, o sea, fluye aproximadamente cuatro veces y media a cinco y media más lentamente que el agua cuando se les coloca en las mismas condiciones. Es un poco más densa que el agua; su densidad varía entre 1.041 y 1.067.

La sangre del hombre es un poco más densa que la de la mujer. En general el término medio es de 1.058. Tiene un olor peculiar, sabor salado, temperatura alrededor de 38°C y pH de 7.38 a 7.4 aproximadamente. Estos valores incluyen tanto la sangre arterial como la venosa.

Cantidad de sangre en el organismo. En el adulto se estima el volumen de sangre en 1/12 ó 1/13 del peso corporal, y el volumen -- plasmático en 1/20 a 1/25 del peso corporal. Esto significa que un individuo que pesa 70Kgs. tiene cerca de 5 Lts. de sangre. Normalmente hay pocas variaciones en la cantidad de sangre y la cantidad de líquido tisular no es constante. Un ejemplo lo constituye la respuesta del -- cuerpo a cambios en la temperatura ambiente. Se considera que --- cuando aumenta la temperatura ambiente, la cantidad de sangre au-- menta con respecto a la de líquido tisular, mientras que si disminuye la temperatura ambiente, sobreviene un aumento de líquido tisular y una disminución en la cantidad de sangre.

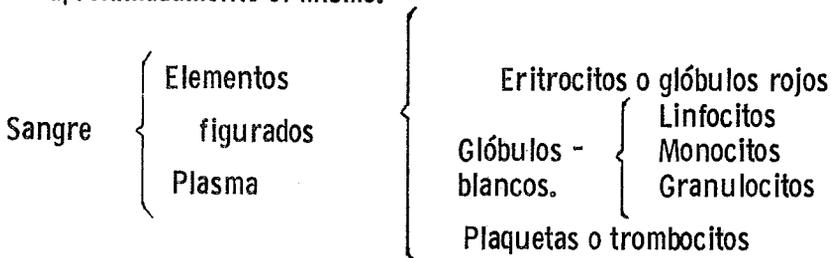
La cantidad de sangre varía con la edad, el sexo, la muscula

tura, la obesidad, la actividad, el grado de hidratación, el estado del corazón y de los vasos sanguíneos y muchos otros factores. Hay -- también gran variación para los distintos individuos.

En estado patológico puede presentarse ciertas modificaciones; la plétora o sea el aumento en volúmen, ocurre en la policitemia y algunas veces en la anemia, etc.

El volúmen plasmático puede medirse inyectando por vía intravenosa cantidades conocidas de colorante azul T1824; después -- que se ha mezclado bien se toman muestras de sangre para determinar el grado de dilución del colorante. Existen otros métodos para -- determinar el volúmen sanguíneo.

Composición de la sangre. A simple vista la sangre se ve opaca y homogénea; sin embargo, al observarla al microscopio se encuentra formada por elementos figurados o glóbulos en un líquido intercelular, el plasma. El volúmen de la célula y del plasma es --- aproximadamente el mismo.



Eritrocitos, hematies, o glóbulos rojos. Al microscopio aparecen como discos bicóncavos, anucleados y muy elásticos. El diáme

tro medio es de unas 7.6 micras cúbicas (0.0077 mm.) y tienen una superficie media de 0.000128 milímetros cuadrados. Cuando se les observa al microscopio, con luz transmitida, muestran un tono rojo amarillento. Solamente cuando están agrupados, en gran número, presentan el clásico color rojo.

Los eritrocitos están formados por una armazón elástica, delgada e incolora llamada estrima, en el cual se deposita la hemoglobina. Son blandos, flexibles y elásticos, de tal manera que sufren deformaciones sorprendentes cuando pasan por capilares finos, pero inmediatamente después recuperan su forma normal.

La hemoglobina es una proteína conjugada, se compone de una proteína llamada globina y de un pigmento no proteico denominado heme o hematina que contine hierro. La cantidad de hierro de la hemoglobina es de 0.33 por ciento. La hemoglobina tiene la capacidad de combinarse con el oxígeno para formar oxihemoglobina. En los tejidos libera este oxígeno y se convierte en hemoglobina reducida.

Funciones de los eritrocitos. Los eritrocitos tienen numerosas funciones, como son: transportar oxígeno a los tejidos, transportar bióxido de carbono proveniente de los tejidos, mantener el equilibrio acidobásico normal (pH), la viscosidad, la densidad, etc. En los capilares de los pulmones, la hemoglobina se carga totalmente

con oxígeno, formando oxihemoglobina. Los eritrocitos transportan la oxihemoglobina a los capilares de los tejidos, donde se libera el oxígeno. En este sitio, la oxihemoglobina se convierte en hemoglobina reducida y está en condiciones de ser llevada al pulmón para recoger -- una nueva carga de oxígeno. El color de la sangre depende de la combinación de la hemoglobina con el oxígeno; cuando la hemoglobina está totalmente saturada con oxígeno la sangre tiene un tono brillante; cuando la cantidad disminuye se vuelve rojo oscuro. La sangre de - color rojo brillante, escarlata, se encuentra generalmente en las ar- terias y se llama sangre arterial; el color rojo oscuro se observa en-- las venas y por esta razón se denomina sangre venosa.

**Hemólisis.** La pérdida de hemoglobina de los eritrocitos y su disolución en el plasma se llama hemólisis. Las sustancias que causan este efecto se conocen como agentes hemolíticos. La hemóli- sis puede ser provocada por: 1) Soluciones hipotónicas que disminu- yen la concentración de sustancias en el plasma, 2) La acción de sue- ros sanguíneos extraños, 3) Agentes como el veneno de serpiente, -- los productos de la actividad bacteriana o sustancias inmunizantes -- que se producen en el interior del organismo, 4) Eter o cloroformo, -- 5) Sales y ácidos grasos, 8) Alcohol amílico o saponina y 9) Amoniaco u otros álcalis. Los eritrocitos que han perdido su hemoglobina son incoloros y no actúan como transportadores de oxígeno.

**Número de eritrocitos.** El número promedio de eritrocitos -

en un milímetro cúbico de sangre normal es de 5 000 000 para el varón, y 4 500 000 para la mujer. Esto daría una cifra total para la sangre de todo el organismo de 20 000 000 000 000. Como la superficie de un glóbulo es aproximadamente de 0.000128 milímetros cuadrados, la superficie de todos los glóbulos rojos en conjunto sería de 2 560 metros cuadrados. Existen estados patológicos que pueden causar grandes disminuciones en su número; también se observan diferencias en estado de salud. El número varía con la altura sobre el nivel del mar, la temperatura, la constitución, el estado de nutrición y el tipo de vida; también varía con la edad, ya que el número es mayor en el feto y el niño recién nacido; con la hora del día, pues se ha observado reducción del número después de las comidas.

El instrumento que se emplea para contar el número de glóbulos rojos se llama hemocitómetro; consta de una cámara cuentaglóbulo y pipetas de dilución para contar los glóbulos rojos y blancos. Si la pipeta de glóbulos rojos se llena con sangre hasta la señal 0.5, y después, con solución salina fisiológica hasta la señal 101, el bulbo contendrá una mezcla de sangre y solución salina al 1:200.

La cámara cuentaglóbulo está provista de una cuadrícula de recuento cuyas líneas están separadas  $1/20$  de mm; cuando el cubreobjetos está en posición correcta, se forma una cámara que mide  $1/10$  de mm de profundidad. Se hace salir del bulbo de la pipeta una gota de la mezcla dejando que se extienda por debajo del cubreobjetos; así ten

dremos en el área de unos de los cuadrados más pequeños,  $1/4000$  - de  $\text{mm}^3$  de la mezcla, que corresponde a  $1/200$  de sangre; por lo tanto las células que se observan son las contenidas en  $1/800\ 000$  de  $\text{mm}^3$  de sangre ( $1/20 \times 1/20 \times 1/10 \times 1/200$ .) Si se cuentan las células contenidas en 80 de estos cuadrados, y esta cifra se multiplica por 10 000, - el resultado dará el número de glóbulos rojos en  $1\ \text{mm}^3$  de sangre; por ejemplo, si se cuentan 450 glóbulos en 80 cuadrados, es número multiplicado por 10 000 da 4 500 000. Es necesario emplear una técnica - muy exacta para ser recuentos globulares.

Hemoglobina. - En el adulto 100 ml. de sangre normal contienen un promedio de 11.5 a 19 g. de hemoglobina; en el varón el promedio es de 14 a 18 g; en la mujer de 11.5 a 16 g. Se ha propuesto que 16.6 g. sean tomados como el 100%. En los niños ( de 4 a 13 años) el promedio es de 12 g; al nacer es alrededor de 17.2 g. de hemoglobina -- por 100 ml. de sangre. El porcentaje de hemoglobina puede obtenerse - comparando el color de la sangre con patrones coloreados.

El índice de color es una expresión que indica la proporción de hemoglobina contenida en cada eritrocito con la cantidad considerada normal para el glóbulo. El número de eritrocitos se obtiene por exámen microscópico, y la cifra que se considera normal es de 100%. Estos datos nos permiten calcular el índice de color por medio de una fracción cuyo numerador es el porcentaje respecto a la concentración normal de hemoglobina, y el denominador el porcentaje respecto a la cifra normal de eritrocitos, por ejemplo 100/100. Si el número de glóbulos -

es normal, se estima el 100%; si la hemoglobina ha bajado a 70%, nos da 70/100, o sea 7/10, lo que demuestra que las células solo contienen 7/10 de su cantidad normal de hemoglobina. El índice de color tiene importancia en el estudio de las anemias, sobre todo en el de la llama da anemia perniciosa.

Los glóbulos blancos o leucocitos son diminutas células amiboides de tamaño variable. Varios autores prefieren llamarlos leucocitos; es muy raro aplicar el término leucocito al referirse exclusivamente a los granulocitos.

El número de glóbulos blancos en un milímetro cúbico de sangre oscila entre 5 000 y 9 000 (aproximadamente un glóbulo blanco por cada 700 glóbulos rojos). El aumento en su número se conoce como leucocitosis y se observa en procesos infecciosos como pulmonía apendicitis o abscesos. La reducción del número de leucocitos se denomina leucopenia, que es síntoma característico en la fiebre tifoidea y la tuberculosis. En condiciones fisiológicas normales pueden haber leucocitosis que alcancen cifras hasta de 10,000, como sucede en la digestión, el ejercicio, el embarazo, los baños fríos, etc. En general cifras de 10 000 o más glóbulos blancos por milímetro cúbico, indican leucocitosis patológica.

Movimiento amiboideo. Los glóbulos blancos tienen la propiedad de tener movimientos amiboideos, por lo que se les ha dado el

nombre de células "errantes". Este poder de migración a través de las paredes de los capilares, para entrar a los tejidos vecinos, se llama -- diapédesis; ocurre normalmente, pero aumenta de manera considerable en diversos estados patológicos.

Variedades de glóbulos blancos. Los glóbulos blancos se clasifican de acuerdo con su estructura, por la presencia de gránulos citoplasmáticos y por su afinidad para los colorantes.

Glóbulos blancos	1) Linfocitos (20-25%)	a) pequeños b) grandes	6-10 $\mu$
	2) Monocitos (3-8%)	a) mononucleares b) transicionales	9-12 $\mu$
	3) Polimorfonucleares (60-70%)	a) neutrófilos b) eosinófilos c) basófilos	7-12 $\mu$ 9-14 $\mu$ 7-9 $\mu$

Los linfocitos tienen su origen reticular de los ganglios linfáticos del organismo. Su citoplasma no es granuloso y tienen un núcleo grande. Los linfocitos pequeños son más numerosos que los linfocitos grandes. Su número es elevado al principio de la vida, pero a los diez años disminuye alrededor del 50 al 35 por ciento.

Los monocitos comprenden las formas mononucleares grandes y las de transición. Se trata de células grandes con núcleo excéntrico, dentado, y son fagocitos.

Los polimorfonucleares o granulocitos muestran notable movimiento de pseudópodos.

1. - Los leucocitos neutrófilos tienen un núcleo lobulado y -

los gránulos de su citoplasma se tiñen con colorantes neutros. Forman del 60 al 70 por ciento del número total de leucocitos. Ingeren bacterias (fagocitosis) y en el hombre adulto se forman en el tejido de la médula ósea.

2. - Los eosinófilos son de tamaño y estructura similar a la de los neutrófilos, pero los gránulos de su citoplasma son mayores y se tiñen con colorantes ácidos como la eosina. Normalmente existen en pequeño número (2 a 4 por ciento), pero en algunos estados patológicos están muy aumentados. Al igual que los neutrófilos, se acepta que tienen su origen en la médula ósea. Después de la administración de HACT, o cortisona, disminuye el número de eosinófilos circulares. Por ello es importante hacer recuento cuando se administra esta hormona.

3. - Los basófilos muestran un núcleo polimorfo y los gránulos de su citoplasma se tiñen con los colorantes básicos. Se encuentran en pequeñas cantidades (0.5 por ciento).

Funciones de los glóbulos blancos. - Las funciones de los glóbulos blancos son numerosas y no se conocen con exactitud. Mencionaremos las más importantes: 1) Por su capacidad para ingerir bacterias ayudan al organismo a protegerse de los gérmenes patógenos; - de este modo las destruyen directamente, o bien, forman ciertas sustancias llamadas bacteriolisinas que tienen el poder de destruirlas. -- Los leucocitos que ingieren bacterias se llaman fagocitos, y el proceso se denomina fagocitosis. Se considera que los neutrófilos son los más

activos para atacar bacterias; Metchnikoff, los llamó micrófagos. Según algunos autores la fagocitosis depende ciertas sustancias que se encuentran en la sangre llamadas opsoninas, las cuales preparan a las bacterias para ser ingeridas por los leucocitos. 2) Cooperan en los procesos de cicatrización tisular y de regeneración. Se asegura que las células de los tejidos conjuntivo y epitelial no pueden tomar directamente de la sangre sus materiales necesarios para el crecimiento. Sin embargo, los leucocitos pueden sintetizar sustancias promotoras del crecimiento a partir del material que obtienen de la sangre. A estas sustancias se les denomina trefonas. 3) Los glóbulos blancos ayudan en los procesos de absorción intestinal. 4) Toman parte en la coagulación de la sangre. 5) Ayudan a mantener la concentración normal de proteínas que se encuentran en el plasma sanguíneo. Las proteínas sanguíneas no son aquellas que se encuentran en el alimento digerido: es probable que los leucocitos participen en la formación de las proteínas propias de la sangre y que, como resultado de su metabolismo, colaboren en el mantenimiento de la concentración normal de las proteínas de la sangre.

Las plaquetas o trombocitos son estructuras en forma de disco, de 2 a 4  $\mu$ . de diámetro. De perfil parecen pequeños bastoncillos; de frente se ven como placas redondeadas. Alcanzan un promedio de 300 000 por milímetro cúbico de sangre. Cuando se separan de la san

gre se aglutinan y desintegran con gran rapidez, a menos que se añada un anticoagulante.

Funciones. - Las plaquetas desempeñan un papel muy importante en la coagulación. Cuando la sangre se extravasa y se pone en contacto con el aire o con una superficie rugosa, como ocurre -- en las heridas y hemorragias, las plaquetas se desintegran y liberan una sustancia que se haya en los extractos tisulares llamada tromboplastina; esta sustancia es esencial para la coagulación. Además, - gran parte de la histamina de la sangre se encuentra en las plaquetas.

Las hemoconias. Están formadas por materias albuminoideas unas y por sustancias grasas otras. Dado su pequeñísimo tamaño, solamente son visibles al microscopio electrónico o con iluminación so-- bre fondo oscuro.

El plasma sanguíneo es un líquido de color ambarino claro. Por su doble relación de las células como era de esperarse, está compuesto de varios elementos, ya que actúa como fuente de nutrimentos, y al mismo tiempo, como medio para eliminar los productos de dedesecho derivados de su metabolismo.

Proteínas plasmáticas. Generalmente se distinguen tres - proteínas en el plasma de la sangre circulante: Fibrinógeno, seroglobulina y seroalbúmina, pero es seguro que existen muchas otras. -- Las dos primeras pertenecen al grupo de las globulinas, por lo tanto, tienen muchas propiedades en común. La seroalbúmina pertenece al

grupo de albúminas. Se acepta que el fibrinógeno, la protrombina y la seroalbúmina se forman en el hígado. No se conoce con certeza el lugar de formación de la seroalbúmina. Se ha pensado que, en el adulto, las proteínas plasmáticas también pueden formarse por la desintegración de los glóbulos rojos y blancos, de las células de los tejidos en general y de las células reticuloendoteliales de la médula ósea, del brazo y del hígado.

Las proteínas mantienen la presión osmótica de los coloides del plasma, dan a la sangre su aspecto viscoso y ayudan a la regulación del equilibrio acidobásico. En las seroglobulinas existen sustancias de acción inmunológica. El fibrinógeno es esencial para la coagulación de la sangre.

Sustancias nutritivas. La sangre contiene los productos finales que resultan de la digestión de los alimentos: aminoácidos, glucosa y grasas neutras. En condiciones normales los aminoácidos se encuentran en pequeña cantidad; la glucosa y las grasas se hallan casi en la misma proporción, es decir, 0.08 a 0.18 por ciento. Tales concentraciones pueden aumentar después de la ingestión de grandes cantidades de alimento.

Las sales contenidas en la sangre provienen de los alimentos y de las reacciones químicas que se efectúan en el organismo. El cloruro de sodio es el que se haya en mayor concentración. Una solución de cloruro de sodio al 0.85 por ciento es isotónica con el plasma

sanguíneo.

Otras sustancias orgánicas. La urea, el ácido úrico, la creatinina, las bases púricas y muchas otras sustancias provenientes de las células pasan por la sangre para ser excretadas por los riñones u otros órganos de eliminación.

Gases. - En la sangre se encuentran gases disueltos: oxígeno, nitrógeno y bióxido de carbono. El ácido carbónico que procede de los tejidos llega constantemente a la sangre en donde existen los llamados amortiguadores como son el bicarbonato de sodio, fosfato de sodio, proteínas, glóbulos rojos, etc., los cuales, al entrar en combinación con el bióxido de carbono, dejan a la sangre sólo una pequeña cantidad de este gas que se haya en forma de simple solución.

Sustancias especiales. - La sangre sirve como medio para -- transportar secreciones internas y enzimas, así como antitrombina, -- antiprotrombina, protrombina, etc.

Anticuerpos. - Este término se aplica a las sustancias que -- son antagonistas a las de los organismos invasores. El restablecimiento de muchas infecciones se debe a la formación de dichos anticuerpos -- en la sangre y al poder de los fagocitos para destruir los gérmenes que han invadido el organismo. Cuando las bacterias entran al cuerpo estimulan la producción de los anticuerpos. Estos se clasifican en: -----  
1). - Lisinas, que tienen la facultad de disolver o destruir las bacterias.

2). - Oponinas, que ayudan a los glóbulos blancos a sensibilizar o preparar a las bacterias para que sean ingeridas y 3) Aglutininas, que aglutinan a las bacterias unas con otras formando grumos o copos. Las antitoxinas también se consideran anticuerpos, ya que neutralizan a las toxinas formadas por los microorganismos patógenos. La formación de anticuerpos en la sangre, en un momento dado, depende del estado de salud, de la resistencia para la infección, etc.

Funciones de la sangre. - La sangre es el medio de transporte del organismo. Las funciones más importantes son las siguientes:

Lleva oxígeno de los pulmones a los tejidos.

Lleva a los tejidos sustancias nutritivas absorbidas por el intestino.

Transporta los productos formados en un tejido y los lleva a otros en donde van a ser utilizados. En otras palabras, transporta hormonas y secreciones internas.

Lleva los productos de desecho del metabolismo a los órganos excretorios: pulmones, riñones, intestino y piel.

Ayuda a mantener normal la temperatura corporal.

Ayuda a mantener normal el equilibrio acidobásico de los tejidos.

Constituye un mecanismo de defensa contra la invasión de microorganismos nocivos.

Ayuda al sostenimiento del equilibrio de líquidos entre la sangre y los tejidos.

Por medio de la coagulación se impide la pérdida de sangre - después de un traumatismo.

### LA COAGULACION DE LA SANGRE

La sangre extraída de un ser vivo es líquida. Pronto se hace muy viscosa y, si no es agitada, toma una consistencia como de jalea. Cuando los glóbulos se separan se forma un líquido de color pálido en la superficie, y por fin la masa gelatinosa se retrae hasta formar una masa semisólida llamada coágulo; el líquido que se forma se denomina suero. Si se examina al microscopio una parte del coágulo se verá - que está formado por una red de finos filamentos, en cuyas mallas es tán atrapados los glóbulos rojos y algunos glóbulos blancos. A medida que el coágulo se retrae, los glóbulos rojos son aprisionados más firme mente en esta red; sin embargo, algunos glóbulos blancos, debido a su capacidad de movimiento amiboideo, escapan hacia el suero. Los finos filamentos están formados de fibrina. Se han propuesto numerosas - teorías para explicar la formación de fibrina insoluble a partir de fibri-

nógeno soluble. No se conoce el proceso exacto, pero se piensa que es muy parecido al de la coagulación de la leche por medio de la renina. - La sangre contiene dos sustancias, antitrombina y antiprotrombina -- (heparina), que impide su coagulación dentro de los vasos sanguíneos y tres sustancias que favorecen la coagulación de la sangre; éstas últimas son: 1) El Fibrinógeno, 2) Las Sales de Calcio y, 3) La Protrombina (Trombógeno). Cuando se coagula la sangre, la Protrombina y las sales de calcio forman trombina, y la trombina convierte el fibrinógeno en fibrina, que es insoluble. La fibrina y los glóbulos sanguíneos forman el coágulo. En forma esquemática, este proceso puede representarse como sigue:

Células lesionadas de la sangre y los tejidos  $\longrightarrow$  Tromboplastina (Cefalina)

La Tromboplastina neutraliza a la antitrombina y antiprotrombina.

Protrombina + Calcio + Tromboplastina + Factor de plaquetas  $\longrightarrow$  Trombina.

Trombina + Activador del suero  $\longrightarrow$  Trombina activa.

Trombina activa + Fibrinógeno + Factor de plaquetas  $\longrightarrow$  Fibrina Insoluble.

Fibrina + Glóbulos sanguíneos  $\longrightarrow$  Coágulo.

Para que la sangre se coagule es preciso que sean neutralizados dos agentes que impiden la coagulación. Estas sustancias son neu-

tralizadas por la tromboplastina recién formada y liberada por las -- células tisulares lesionadas, las plaquetas y los glóbulos sanguíneos. Así se explica el hecho de que la sangre solo se coagula cuando se - lesionan los tejidos.

Importancia de la coagulación. Es un mecanismo que interviene de manera importante en la detención de las hemorragias, pues el coágulo ocluye las aberturas de los vasos lesionados. Los - procedimientos utilizados para dominar la hemorragia tienen como fin acelerar la formación del coágulo y estimular la concentración - de los vasos sanguíneos, de manera que el coágulo pequeño baste -- para contener la salida de sangre.

En el hombre el tiempo de coagulación normal es aproximadamente de 5 minutos. En algunos sujetos predispuestos la sangre no se coagula con rapidez, o no puede coagularse, de manera que cualquier lesión o una intervención quirúrgica pueden provocar hemorragias muy peligrosas. Esta enfermedad se llama hemofilia. Es -- exclusiva del sexo masculino; las mujeres adultas no padecen el trastorno, pero si lo transmiten a su descendencia.

Factores que modifican la coagulación. La coagulación es acelerada por:

Lesión de las paredes de los vasos sanguíneos.

Contacto con una superficie rugosa o una sustancia extraña. La coagulación se acelera poniendo sobre la herida, gasa o un material parecido.

El veneno de algunas serpientes .

Una temperatura por encima de  $37^{\circ}\text{C}$  (por ejemplo la aplicación de compresas calientes a una herida) acelera la coagulación, quizá porque favorece la formación de trombina y los cambios químicos de la coagulación.

El reposo tiende a impedir la separación de los coágulos formados en la abertura de los vasos. Si la sangre que está contenida en un recipiente se agita moderadamente, se acelera la desintegración de los trombocitos provocando la formación de tromboplastina.

La coagulación es retardada por:

La presencia en el corazón y los vasos sanguíneos de un endotelio vascular liso, rico en lípidos, al que no se adhiere la sangre.

Deficiencia de las sales normales.

La adición de citratos u oxalatos a la sangre, en virtud de que estas sustancias suprimen la acción del ión calcio.

Una temperatura muy baja. El frío retarda la formulación del coágulo, pero a menudo se emplea para dominar hemorragias por--

que estimula contracción de los vasos sanguíneos.

Deficiencia de trombocitos.

Soluciones concentradas de sales como sulfato de magnesio, sulfato de sodio y fluoruro de sodio.

Extractos de sanguijuelas y el veneno de algunas serpientes.

Concentración baja de fibrinógeno.

Deficiencia de vitamina K. Esta vitamina es necesaria para la producción adecuada de protrombina. Los pacientes con icteria obstructiva tienen el tiempo de coagulación prolongado porque la bilis es indispensable para la absorción de la vitamina K por el intestino.

Supresión de la fibrina. Si antes de que la sangre se coagule, se agita con un haz de varilla fina, la fibrina se deposita en estos cuerpos mientras va coagulando. Si la sangre se agita hasta que toda la fibrina se ha separado, esta sangre ya no podrá coagularse por lo que se llama desfibrinada.

Colocar la sangre en un recipiente untado de una capa de aceite o parafina.

Razones por la que la sangre no se coagula en el interior de los vasos sanguíneos. De acuerdo con la teoría de la coagulación que hemos considerado, la sangre circulante no contiene trombina, y por eso no se coagula, además de que en ella existe la antiprotombina y la

antitrombina.

### TITULACION DE LA SANGRE

La titulación de la sangre, o sea su clasificación en grupo, se basa en la aglutinación de los glóbulos rojos. En el esquema se muestra la valoración de los resultados de laboratorio cuando la sangre de diversos tipos se añade a un suero de tipo conocido. También muestra todas las posibles combinaciones de aglutinógenos y aglutininas en la sangre.

### AGLUTININAS EN EL SUERO

	GLOBULOS	ab	b	a	o
AGLUTINOGENOS	O	-	-	-	-
	A	+	-	+	-
	B	+	+	-	-
	AB	+	+	+	-

+ Aglutinación

- No aglutinación

Para explicar este fenómeno, los glóbulos rojos se consideran formados por dos sustancias llamadas aglutinógenos y se designan por las letras A y B. Además, el suero contiene dos aglutininas que se denominan a y b que actúan sobre los aglutinógenos. La aglutinación se produce cuando un aglutinógeno A, se pone en contacto con una aglutinina a, o cuando un aglutinógeno B se pone en contacto con una aglutinina b. Estos grupos o tipos se han denominado de distintas maneras. La nomenclatura actual, con sus relaciones para los aglutinógenos y aglutininas en cada tipo, se muestra más adelante. Landsteiner denominó a los grupos en función del tipo de aglutinógeno presente en los glóbulos; además, señaló la existencia de dos grupos o sub divisiones de dichos grupos como por ejemplo, el factor MN.

Un donador del grupo O se denomina donador universal. Como la sangre del grupo O no tiene aglutinógenos, no puede ser aglutinada por las aglutininas del suero de la sangre de cualquier tipo; si es introducida muy lentamente a la sangre de un receptor quedará tan diluida que no se aglutinará a los glóbulos del receptor. Un receptor cuya sangre es AB se denomina receptor universal puesto que su sangre no puede aglutinar.

Los nombres descriptivos O, A, B, y AB se expresan en términos de los aglutinógenos de las células.

Clasificación de los grupos sanguíneos según Landsteiner

Grupo	Aglutinógenos en los Glóbulos.	Aglutininas en el Suero.
O	O	a y b
A	A	b
B	B	a
AB	AB	O

Los tipos sanguíneos se determinan agregando sangre entera al suero de un tipo conocido. Si los glóbulos son aglutinados por un suero a, significa que el aglutinógeno A está presente; si se aglutinan con suero b, esto indica que la sangre es de tipo B. Como se ve en la figura, en la práctica sólo es necesario emplear suero a y suero b para probar cualquier sangre y clasificarla en uno de los cuatro grupos.

El factor Rh. Landsteiner y otros investigadores descubrieron un aglutinógeno en la sangre humana que también existe en el mono Rhesus. Por esta razón se le denominó factor Rh. En los Estados Unidos, entre la población blanca, cerca del 85% es Rh positivo y el 15% Rh negativo. Existen varios subgrupos de la sangre Rh positiva.

Al administrar una transfusión de sangre, si una persona Rh negativo recibe sangre Rh positivo, el receptor desarrollará una aglutinina anti-Rh que puede causar reacciones hemolíticas.

En la mayor parte de los casos (cerca del 90%) de eritroblastosis fetal la producción de aglutininas anti-Rh en la sangre de la madre es la responsable del proceso (si la madre es Rh negativo y el padre es Rh positivo, el niño será Rh positivo). Se considera que el paso de aglutinógenos a través de la circulación fetal hasta alcanzar la circulación de la madre da lugar a la formación de aglutininas que, a su vez, destruyen los glóbulos rojos del feto. Sin embargo, no todos los niños cuyos padres pertenecen a este tipo desarrollan reacciones hemolíticas.

La sangre Rh negativo contiene un factor al que se ha llamado factor Hr para indicar su relación con el factor Rh. Los factores Hr son débilmente antigénicos. Es posible que una madre Rh positivo desarrolle una aglutinina anti-Hr en respuesta a un factor Hr si el feto es Rh negativo.

Los grupos sanguíneos se heredan como caracteres mendelianos dominantes; el grupo O es recesivo con respecto a los grupos A, B y AB.

En el feto se encuentran aglutinógenos en los glóbulos rojos alrededor de la sexta semana. En el recién nacido la concentración corresponde a la quinta parte de la del adulto. Las concentraciones normales se alcanzan en la adolescencia. Por regla general en la sangre del recién nacido no hay aglutininas. Las aglutininas específicas se forman en el plasma en el término de dos semanas, y alcanzan su ma-

yor concentración alrededor del décimo año de vida. La concentración de aglutininas varía según la edad y el individuo. Una vez establecidos, los grupos sanguíneos no cambian, es decir, después que se ha constituido el grupo B, seguirá siendo grupo B.

## C A P I T U L O III.

TOMA DE MUESTRAS EN DIFERENTES CASOS.

Cuando el químico legista en el desempeño del cargo de perito, o bien en el ejercicio de sus funciones al frente de un laboratorio al servicio de la autoridad judicial, tiene que recurrir al lugar en que se ha cometido un crimen y proceder a localizar y muestrear manchas de sangre, su búsqueda puede ser laboriosa y aún estéril, por lo que siempre deberá practicarla con método y minuciosidad si se quieren lograr resultados efectivos y ahorrar tiempo.

Claro está, en muchos casos, las manchas están perfectamente claras y visibles en un área reducida y su labor se iniciará -- descubriendo en detalle, su forma, color, dimensiones y situación, así como el estado de fluidez o de coagulación en que se encuentren, tomando de ser posible una o dos fotografías, levantando un croquis cuidadoso en el lugar de los hechos, la posición, la forma y extensión de dichas manchas con el fin de que queden precisadas para una posterior referencia de los resultados analíticos obtenidos.

Algunas manchas aisladas, por su forma especial, requerirán una fotografía o una descripción particular.

En términos generales diremos que suelen encontrarse en el lugar indicado, manchas que podemos clasificar en alguno de los cuatro grupos siguientes:

1. - Uno o varios charcos, generalmente junto al cadáver, - con mayor o menor cantidad de sangre.

2. - Proyecciones de sangre en gotas pequeñas, sobre la pared, muebles u objetos, los cuales pueden orientar respecto a la lesión, ya que generalmente se deben a sangre arterial por rotura de los grandes vasos.

3. - Gotas de sangre, principalmente sobre el piso, que pueden indicar por su forma, la trayectoria o movimientos del herido, o del heridor manchado de sangre, constituyendo la sucesión de ellas, lo que generalmente se llama "un rastro".

4. - Impresiones ensangrentadas -claras o latentes-, sobre ropas u objetos que deben someterse a un cuidadoso exámen analítico.

Antes de proceder a un muestreo, se hará sistemáticamente el exámen del piso, de sus grietas, oquedades y junturas de las paredes de la habitación, así como de los muebles ya que en ellos suelen encontrarse manchas producidas por una mano ensangrentada al apoyarse o bien proyecciones de sangre. Asimismo, los bordes inferiores o internos de las cubiertas de una mesa o de los cajones que no tienen

agarraderas, deberán examinarse, pues suelen presentar huellas examinadas ahí, por los pulpejos ensangrentados de los dedos.

La descripción de rastros de sangre en entradas o salidas del local, es particularmente importante, y su forma, permitirá, como ya indicamos, sacar conclusiones precisas al respecto, al sentido del movimiento que los produjo, etc.

Si la víctima, después de la herida ejecutó movimientos antes. En la búsqueda se tendrá en cuenta que las manchas de sangre suelen encontrarse no solo en lugar que estaba el herido, o en los que estuvo el agresor después de cometer su delito, o si hubo lucha, se encontrarán huellas en distintos lugares, por lo que el exámen deberá hacerse extensivo al teléfono y demás objetos que pudieron ser manejados, al lavabo que quizá utilizó el agresor, el interruptor de luz y la toalla o ropas en que pudo secar sus manos ensangrentadas, etc.

En este exámen preliminar en el lugar de los hechos, deberá tenerse presente para posteriores conclusiones, que solamente la sangre arterial se proyecta con fuerza, siendo por lo tanto capaz de producir chisquetes o proyecciones a distancia, y su color es rojo claro, -- mientras que el de la sangre venosa es mucho más oscuro.

La cantidad de sangre encontrada alrededor de un cadáver -- en un caso de homicidio, puede indicar el tiempo que sobrevivió la -- víctima después de ser herida. Con la muerte cesa la circulación y al

anularse la presión sanguínea las heridas dejan de sangrar, salvo en el caso de una gran lesión en posición tal, que por la acción de la gravedad de la sangre siga saliendo hasta llegar a acumularse en gran cantidad.

Si el cadáver presenta pequeñas heridas y se encuentra en medio de un gran charco de sangre, indicará que la víctima vivió largo tiempo después de la agresión, pudiendo en algunos casos, la misma gran pérdida de sangre, haber ocasionado la muerte.

El cuerpo tiene un mecanismo defensivo contra la hemorragia excesiva, y tan pronto como la pérdida de sangre es considerable, la presión sanguínea disminuye y por lo tanto la hemorragia.

Cuando la lesión es pequeña y la muerte es casi inmediata, como en el caso de una herida de arma de fuego en el corazón, la cantidad de sangre que se encuentra alrededor del cadáver es muy pequeña. Por lo tanto insistimos en la conveniencia de que en dictamen pericial se consigue, cuando el perito examinó el lugar de los hechos, la extensión de los charcos de sangre y su ubicación, así como de las demás manchas y se anexe una fotografía ilustrada de dicho lugar o un croquis, ya que estos datos pueden ser de gran importancia en algunos casos, siempre y cuando el juzgador sepa estimarlos y valorizarlos.

Igualmente, la forma y dirección que las manchas de sangre tengan en la ropa, alrededor de un orificio de entrada, deben ser objeto de una atención particular. Pueden indicar por sí solas, en algunos casos de homicidio, la posición en que estaba la víctima en el momento de la agresión; si ésta fué movida, etc.

El estudio e interpretación de estas manchas de sangre, o sea el lenguaje de las manchas, sobre todo si se aúna al exámen -- tanatológico, corroborará o desvirtuará la declaración del acusado, permitiendo conclusiones perfectamente fundadas, respecto a la forma en que se desarrollaron los hechos.

Cuando el lugar del hecho no se examine de inmediato -- sino después de un tiempo en el que el piso pudo ser lavado, la sangre se buscará en las grietas de la madera o en las juntas del -- mosaico o enladrillado, así como en las zonas de declive en que lógicamente pudo acumularse.

En las armas blancas, cuando se presume que han sido lavadas, se buscará la sangre en la ranura que tienen las navajas del bolsillo, y en la junta del mango en los cuchillos y puñales.

En las ropas se busca la sangre en las costuras, pues si han sido lavadas, en ellas se encuentra el elemento colorante, así como en los bolsillos, que hayan podido tener contacto con una mano, también en los hilos y en los botones. Igualmente se buscará

en los bordes internos, en la bocamanga de las camisas, sacos o --  
abrigo, en la parte posterior de las valencianas del pantalón que -  
roza el suelo; en las cintas y suelas de los zapatos, etc.

Cuando el exámen se practica en una persona, debe ponerse  
particular atención al cabello, pues las manos ensangrentadas, -  
pueden haber dejado huellas en él. Igualmente se examinarán de-  
tenidamente las uñas, pues ahí se deposita la sangre y resiste al -  
lavado.

Todos los objetos encontrados en el lugar del crimen, en  
los que se presume la existencia de sangre, deberán ser cuidadosa-  
mente empaquetados y etiquetados, a fin de remitirlos al laborato--  
rio en el que se practicará su exámen. Solamente cuando por sus  
dimensiones o especiales circunstancias no pudieran remitirse, --  
después de la fotografía y descripción de las manchas que presenten,  
se muestrearán éstas en la forma que a continuación detallaremos.

Las ropas que presentan manchas de sangre frescas, no  
deberán envolverse de inmediato pues podría iniciarse un proceso  
de putrefacción, que perjudica el estudio de las mismas. Por lo tanto  
deben orearse y envolverse cuando ya estén secas, intercalando -  
en los dobles hojas de papel a fin de evitar que su contacto con --  
otras limpias de la misma tela, produzca otras manchas difusas que  
darían lugar a confusiones.

Las distintas piezas u objetos se empaquetarán por separado, poniendo una etiqueta a cada uno en la que se anotará todo lo necesario para su posterior identificación, y que ésta quede fuera de toda duda en los tribunales.

Ya en el laboratorio, las distintas piezas son sometidas a un exámen preliminar, y en su informe se irá describiendo la prenda u objeto en que se encuentren manchas, así como su ubicación, forma, dimensiones, color, aspecto y profusión.

La localización de las manchas de sangre no siempre es fácil sobre todo cuando son muy pequeñas, o cuando se encuentran sobre objetos o telas de colores oscuros que las enmascaran. En estos casos el exámen deberá practicarse no solo con luz natural sino con luz artificial. Algunas veces con luz incidente, se logra destacarlas. Igualmente el exámen a la luz ultravioleta nos es de mucha utilidad, sobre todo cuando puede trabajarse a distintas longitudes de onda, dentro de la gama de ultravioleta.

Cuando las manchas de sangre están sobre telas que ya han sido lavadas, su localización es muy difícil, siendo necesario entonces recurrir a la fotografía infraroja, para lo cual se utiliza una película fotográfica especial, la película infraroja, y un filtro rojo tal como el Kodak Wraten No. 25 (A) o bien filtros No. 29 (F), 70, 87, 88 (A) o 89 (A). Cuando la iluminación es con luz eléctrica es recomendable el

filtro No. 15 (G), y para la exposición se tomará en cuenta el factor de iluminación, el del filtro y el de la película infraroja que se esté utilizando. Algunas veces no es necesario para destacar la situación la fotografía infraroja, sino que basta simplemente tomar, sobre película pancromática, diferentes fotografías utilizando filtros de diferentes -- colores, los más útiles son el amarillo, el rojo y el verde.

## CAPITULO IV.

### ACTUACION EN EL LUGAR DE LOS HECHOS Y LOCALIZACION DE LAS - MANCHAS DE SANGRE.

La preservación del sitio del hecho es de capital importancia por que en él se encuentran las investigaciones tanto del punto de vista potencial como el de la metódica funcional para el diagnóstico médico forense.

Esos primeros elementos reciben el nombre genérico de pruebas que pueden ser técnicas o testimoniales. Las técnicas, constituídas por las piezas materiales, como armas o instrumentos, huellas e impresiones de toda clase, manchas, descubiertas en el sitio de los -- hechos, son el objetivo primordial de la actuación criminalística.

Desde que el criminalístico llega al lugar e inicia su recorrido por el, comienza a proteger convenientemente todas las trazas e indicios, a fin de que no sean destruidos ni deteriorados en manera alguna. Un lugar profanado por curiosos e ignorantes es impropia para -- diagnósticos de certeza por lo cual la protección de la escena del hecho es fundamental en química legal criminalística.

Si el delito ocurre en local cerrado debe ser protegido totalmente. Si se produce en la vía pública, el área se aislará con la mayor

rapidez posible, para que no se modifiquen ni desaparezcan las marcas, rastros, pisadas o impresiones de vehículos, etc.

Todos los indicios, tanto los físicos como los químicos serán amparados de la acción del aire y de las inclemencias del tiempo, cubriéndolos con cajas, latas o envases limpios y secos. Hay que cubrir y proteger las marcas e impresiones, rehuyendo el más leve contacto con ellas, a fin de evitar su destrucción o modificación. Nunca debe cometerse el error de remover un objeto con el pretexto de protegerlo mejor cambiándolo de lugar o de posición.

El campo de acción debe ser lo más amplio posible defendiéndolo siempre adecuadamente para impedir la inutilización o destrucción de los rastros y trazas hallados. El esclarecimiento del caso y, por tanto, la prueba de inocencia o culpabilidad, dependen de la protección y exámen aún de la mínima fracción de prueba física, para lo cual se requiere gran experiencia criminalística. En la mayoría de los casos, las pruebas materiales del delito son de acero como las armas blancas y las armas de fuego, ni visibles como las balas y cartuchos; de ordinario son imperceptibles, como las huellas dermopapilares; -- leves, como los cabellos y las fibras orgánicas e inorgánicas, que --- arrastra la brisa y hasta el aliento del propio investigador hecha a volar.

La criminalística es tanto más efectiva y fructífera cuanto - más completo y perfecto sea el sistema de protección que utilizan --- sus cultivadores. La rutina de un escenario de delito demuestra ignorancia de las medidas que deben ser empleadas para la protección. El auténtico devoto de la ciencia cumple siempre los sagrados cánones de ella. Han ocurrido casos en los que personas que se dicen peritos y que trabajan en Instituciones Oficiales, no han tomado muestras - ni han protegido lo sobrante, error derivado de que no son peritos a pesar de la gran propaganda periodística y de televisión que se hacen.

Tan pronto como el criminalístico ha determinado la extensión del área que comprende la escena del crimen, debe registrarla - fotográficamente, pero no tomando una vista general sino reproduciendo sistemáticamente el lugar en concordancia con la investigación y la perinocroscopía.

La inspección del escenario del delito está constituida por una serie progresiva de pasos o fases, con su lugar propio en la sucesión gráfica. Algunos opinan que una fotografía general o de conjunto es suficiente, otros creen que bastan dos, tomadas desde ángulos opuestos, pero lo cierto es que el número depende del tipo del caso judicial, la extensión del área donde se desarrollaron los hechos y las condiciones o estado del lugar del suceso.

La fotografía corriente permite obtener una impresión de --

conjunto del lugar, y aún indicar la situación de la mayoría de los objetos, pero es insuficiente para informar acerca de las dimensiones exactas de estos objetos y su posición precisa. La fotografía métrica de Bertillon cubrió impecablemente este vacío, permitiendo señalar o encontrar fácilmente las dimensiones de un objeto o de una herida, así como establecer un plano geométrico exacto de los lugares, sobre el que puede marcar la posición precisa del cadáver y de los objetos que lo rodeen, proporcionándonos una gráfica de la perinecropsografía. Es un documento reproducido automáticamente, que presenta con fidelidad la verdadera escena, así la fotografía puede compararse con una memoria artificial del instructor.

Naturalmente, se buscará en las fotografías las pruebas técnicas o materiales, los indicios típicos, todos los cuales se registran en fotogramas, o sea, en fotografías especialmente hechas para mostrar un elemento de prueba; por ejemplo, en caso de heridas con arma blanca, el lugar donde fué encontrada tal arma, su posición, en caso de heridas con arma de fuego, el revólver, la pistola, la bala, el casquillo; el sitio donde fué hallada, su disposición, etc.

La fotografía criminalística forense, que es una rama del arte fotográfico, ejerce poderosa influencia psicológica tanto sobre el acusado como sobre los jurados o magistrados. Una fotografía forense bien realizada, que responda los requisitos criminalísticos y a las de-

mandas científicas de la metódica funcional, que coinciden en la dinámica del suceso, puede reemplazar muy ventajosamente, la acusación más elocuente, porque la imagen, del hecho impresiona por su realismo, conmueve por su veracidad y convence por su insuperable objetividad.

La fotografía recoge los detalles macrosópicos, fija en el --- cuadro general las cosas grandes. Pero los fotogramas resaltan los - detalles pequeños, los indicios diminutos, como las trazas hemáticas, preciosas pruebas técnicas para buscar el autor del hecho y decisivas para su identificación. Esas minúsculas pruebas materiales, orgáni- cas e inorgánicas, reproducidas y ampliadas, como fotogramas crimina- lísticos, proporcionan el medio de prueba técnico más abrumador y de- cisivo.

Nada debe escapar a la fotografía forense: el lugar del hecho el sitio preciso en que aparecieron la víctima, las armas y objetivos -- utilizados en la perpetración del delito, el emplazamiento de las huellas e impresiones dermopapilares, la situación, forma y dirección de los - rastros de la sangre, la disposición de las salpicaduras en el suelo, en las paredes, en el techo y en los muebles. El suceso, su desarrollo, - la posición y movimientos de la víctima y del victimario, en la recons- trucción, se graban en la fotografía, cuyas imágenes científicas ex-- ponen la realidad del hecho y la culpabilidad o la inocencia del sospe- choso.

Es esencial no tocar ni remover nada. Todo cuanto está en el área del suceso es intangible. En ningún momento ni en forma alguna las cosas u objetos existentes en ella deben tener contacto con las manos, ni pueden ser rozados por parte alguna del cuerpo, ni con pretexto alguno deben ser movidos ni variados en su posición, únicamente después de la fotografía general y de las demás pertinentes, -- con las precauciones indispensables, las armas, instrumentos, etc. podrán ser levantados y manipulados por los investigadores, para los exámenes de rutina criminalística.

Deberá tenerse presente siempre que cualquier alteración o desarreglo de las cosas no sólo representa contaminación e introducción de huellas e impresiones dermopapilares ajenas al caso, sino también el cambio de posición y orientación del arma, herramienta u objeto tomado, que puede inducir a error en la reconstrucción del suceso. La posición exacta del indicio cutáneo, la disposición de la mancha o vestigio orgánico e inorgánico, son tan importantes como su origen o procedencia. Para que las pruebas microquímicas sean correctas, idóneas y decisivas, para que posean su más alto valor criminalístico, es preciso determinar su posición, orientación y coloración, es decir, la forma y sitio en que ha sido hallada.

Se hace incapié en la importancia de la posición de las trazas, sin la cual es imposible valorar la prueba. Cualquier variación en las

cosas existentes en la escena de un suceso no solo influye, repercute y torna problemática la reconstrucción de un delito, sino que dificulta e imposibilita la individualización de la prueba, por lo cual queda impune el hecho. El sudor de los dedos o de las manos, las sustancias existentes en la superficie, no deben contaminar ni los objetos ni las prendas de vestir, a fin de que no posea más que los elementos biológicos y físicos protagonistas. Es pecado técnico imperdonable introducir elementos ajenos al hecho.

Los preceptos de la criminalística ordenan inspeccionar con calma el sitio del hecho, explorarlo en todas sus partes con tranquilidad y paciencia inagotables.

Puertas y ventanas del local deben cerrarse, luego que penetran en él las autoridades o investigadores auxiliares, con el fin de impedir el acceso de curiosos o la entrada de animales. Con todo, unas veces deben abrirse para disponer de luz natural, y otras para facilitar el que se desvanezcan los olores nauseabundos, como los emanados de cadáveres en descomposición, o los gases nocivos.

Sin embargo, la medida más acertada es mantener el local cerrado para prevenir el acaecimiento de los riesgos señalados, provenientes del desplazamiento de las cosas o pérdida de pruebas ligeras, mientras se lleva a cabo la inspección. Después al dar comienzo a la exploración del lugar, pueden abrirse puertas y ventanas para dar paso

a la luz natural, pero ya con todos los caminos vigilados. En sitio - o local obscuro las indagaciones deben hacerse con lámpara eléctrica de bolsillo, no con bujía o vela, para evitar que las gotas de estearina puedan caer sobre huellas, impresiones, manchas etc. Aún en los - lugares con ventilación e iluminación suficiente, los objetos pulidos deben ser observados en ángulo luminoso oblicuo, para descubrir por contraste las huellas dermopapilares.

Mejor que la luz natural o la de bombilla eléctrica, es la linterna de bolsillo, con la que se puede dirigir el haz luminoso oblicua-mente sobre el punto preciso o región estratégica sometida a observa--ción, dejando en la penumbra el resto, con lo cual resaltan las más pequeñas o hábiles huellas y se evita que a los ojos del investigador lle--gue rayo de luz que pueda deslumbrarlo, por lo menos momentánea---mente. De ser posible se debe llegar al lugar con el laboratorio móvil, equipado con planta de luz propia.

El ángulo de reflexión de la luz tiene extraordinaria importan-cia en la investigación y observación de las impresiones dermopapilares latentes; hay muchos casos en que la superficie aparentemente está li--bre de impresiones dactilares, pero que surgen como por arte de magia - cuando la luz de linterna u otra fuente es lanzada en varios ángulos so-bre la superficie en cuestión; sin duda alguna la presencia de impresio-nes latentes, en muchas ocasiones, puede ser descubierta y localizada

por la adecuada manipulación de un haz potente de luz. La luz revelará cualquier alteración por polvo caído de las superficies y los rayos luminosos se reflejarán por las sustancias oleosas que hayan permitido producir la impresión latente.

Las manchas de sangre no suelen ser difíciles de descubrir y reconocer. Las que se encuentran en las paredes suelen no presentar su color común café rojizo, sino que pueden ser negras, verdes, azules o blanco-grisáceas. Este cambio de color se debe a que los tintes de color tapiz o la pintura de las paredes a veces se disuelven en la sangre. Por ejemplo, la sangre sobre un papel tapiz de color dorado, suele volverse verde, debido a la formación de óxido de cobre. En algunas telas la sangre se torna gris si se expone a los rayos del sol.

Sobre un fondo oscuro suele ser difícil reconocer las manchas de sangre. En tales casos se deberá buscar a la luz del día o de una linterna eléctrica. Bajo la luz artificial, las manchas de sangre secas aparecerán contra un fondo opaco como barniz brillante, también se utiliza luz ultravioleta.

Las manchas de sangre deben buscarse principalmente en el cuerpo de la víctima, de capital importancia son las manchas de sangre en el cuerpo del sospechoso, y especialmente se deberán buscar en las uñas, la barba y el cabello. En general éstas se buscarán sobre todos los objetos que hayan podido tener relación con el delito de sangre;

prendas de vestir, paredes, suelo, muebles, a menudo se encuentra sangre en lugares que no son directamente visibles, por ejemplo bajo el borde de la cubierta de una mesa, donde el criminal puede haberse limpiado las manos, cosa común en los distritos rurales; bajo las gavetas de una mesa o de una cómoda donde el criminal pueda haber buscado dinero; o en el desagüe de un lavabo donde el criminal pueda haberse lavado las manos y quede todavía sangre en la curva del desagüe. En este último caso se deberá recoger el agua en una botella o vaso limpio. También se puede encontrar sangre sobre papeles, estufas, retretes, en cestos para desperdicios, etc.

Para efectuar una búsqueda se emplea una lupa, y se raspa la sangre con una navaja de manera que caiga sobre papel blanco. Deberá buscarse cuidadosamente en los bolsillos. En ropa recién lavada deberán abrirse las costuras, para ver si ha quedado sangre en ellas. La inspección además debe realizarse primero con luz natural y luego con luz artificial, utilizando lámparas eléctricas de bolsillo, las cuales permiten variar el ángulo de incidencia de la luz y hacen visibles manchas que por encontrarse sobre fondo oscuro podrían no ser inadvertidas, también es utilizable para este tipo de investigación la luz ultravioleta.

La investigación de sangre en las armas blancas debe realizarse en la unión de la hoja con el mango, ya que aún cuando se lim

pie el arma siempre quedan rastros identificables. Se deben investigar el estado de los orificios naturales en el ser humano, para evitar futuras alegaciones sobre el espontáneo de la sangre: hemorroides, mucosa nasal en las epítaxis, vagina en los casos de menstruación.

En algunos casos es posible también descubrir la presencia de sangre en un piso fregado, pero tal exámen deberá hacerse con mucho cuidado, pues después de fregar un piso puede todavía quedar sangre entre las ranuras del mosaico, especialmente si se sabe que el piso ha sido lavado con alguna sustancia corrosiva, por ejemplo: lejía -- fuerte, ácido sulfúrico, etc. Deberá precisarse cuidadosamente la posición, tamaño y forma de las manchas.

La situación y forma de las manchas de sangre son condicionadas por la naturaleza y sitio de la lesión, por la posición de la víctima y sus desplazamientos, por los movimientos del asesino y por los factores físico-químicos de la propia sangre, todos estos factores hacen variar la cantidad, la altura y el ángulo de caída de la sangre derramada, de donde resulta la forma de la mancha.

## CAPITULO V.

### GUIAS PARA COLECTAR LA EVIDENCIA Y SU MANEJO.

Generalmente ocurre una transferencia de materiales cuando los objetos o personas tienen contacto entre sí. En un acto criminal, - un intruso puede dejar huellas físicas en la escena del crimen, la evidencia física es cualquier objeto tangible que pueda conectar a un sospechoso con el crimen o con la escena del crimen.

La admisibilidad de una evidencia, presentada como prueba, - dependerá en parte de la forma en que fué colectada y de los cuidados - que se tomaron posteriormente para asegurar su integridad. El testimonio que se acompañe debe mostrar también que el espécimen en cuestión fué encontrado, ya sea en la escena del crimen, en posesión o bajo control del acusado, o está relacionado en alguna forma con el crimen. El oficial debe mostrar también, a satisfacción de la Corte, que la evidencia no fué alterada y que se puede identificar positivamente entre otros objetos que pueden tener apariencia similar.

Se pueden llenar estos requisitos, si se siguen los siguientes métodos aceptados:

- a) Proteger la escena del crimen.
- b) Colectar la evidencia.

- c) Marcar la evidencia para identificación futura.
- d) Mantener la continuidad o cadena de posesión, de los objetos probatorios.

Aún cuando se disponga de varias guías de investigación para ayudar a fijar el valor de la evidencia que se pudiera encontrar en la escena del crimen, la selección y colección de estos objetos aún está sujeta a criterio personal. Sin embargo, esta forma personalista en la tarea de escoger la evidencia, a menudo conduce al error común de pasar por alto las huellas físicas menos obvias que deja un criminal o despreciar la importancia de las mismas.

Se debe desarrollar cierta sensibilidad hacia aquellas cosas que pueden estar fuera de lugar o que aparecen como que no "pertenecen" a la escena, sin tomar en cuenta su tamaño o apariencia: lodo en la alfombra, manchas de lápiz labial en un vaso encontrado en un apartamento de soltero, una colilla de cigarro hallada en el cenicero de un conocido fumador de puros, fibras de ropa enganchadas en una persiana torcida, etc.

Después de que usted localice algún objeto que considere permanente al caso bajo investigación, no lo mueva sino hasta fotografiarlo, medirlo, anotar su posición en el croquis de la escena del crimen, describirlo en el libro de notas, y, si el caso lo justifica, hasta que lo hayan analizado en busca de huellas dactilares latentes.

Después de completar esta tarea preliminar, reúna cuidadosamente la evidencia de modo que no sea dañada, alterada o destruída. Como ejemplo: un destornillador encontrado en la escena de un robo con escalo, no se debe colocar encima de las marcas encontradas en la cerradura de la puerta. Este intento poco hábil de comparar la herramienta con la impresión, puede alterar o destruir la evidencia. En lugar de eso, la herramienta se debe apartar, marcar y empacar apropiadamente.

Habrá ocasiones en que evidencia tal como manchas de sangre, deban someterse a exámen científico. En este caso, se debe co--lectar suficiente muestra del material que sea posible. Esto asegurará al analista una cantidad adecuada para realizar un exámen exhaustivo, sin temor de destruir o alterar toda la evidencia. Además, una cantidad pequeña de material disponible, puede reducir la amplitud del exámen científico, ya que los análisis químicos a menudo consumen parte de la evidencia. Por último, si aún se dispone de una porción del espécimen y se lo presenta como evidencia, en estado natural, es más fácil demostrar la importancia y la relación de la evidencia a la Corte o Jurado.

En las investigaciones mayores de un crimen grave contra una persona o propiedad, etc., las huellas físicas se deben guardar para fines de comparación en fechas posteriores. Los objetos típicos

conocidos como "standards", incluyen el cabello encontrado en las raspaduras de las uñas o en la ropa de la víctima; fibras; aislamiento de una caja fuerte; tierra de la escena del crimen o de un accidente; marcas de herramienta; vidrios rotos de fanales delanteros; residuos de pintura o astillas encontradas en el cuerpo de una víctima de accidente de tránsito. La importancia de tales objetos consiste en que pueden servir para compararse con el material o con las características físicas de los objetos encontrados en el cuerpo, en ropa, en zapatos, en automóvil, o en el hogar del sospechoso y, por consiguiente, para relacionar al sujeto con el crimen, o situarlo a él o a su automóvil, en la escena del mismo.

Toda evidencia recobrada se debe marcar y etiquetar inmediatamente y apropiadamente, a fin de asegurar su identificación exacta en una fecha posterior. Uno de los muchos motivos para estas precauciones es que a menudo se requiere que el oficial de la policía identifique las muestras presentadas como evidencia en un juicio, varios meses después de que se acabó la investigación. En estos casos, la amplitud y exactitud del testimonio del oficial de policía reflejará, en parte, la forma en que colocó las marcas identificadoras y anotó esta información en su libreta.

Marque cada pieza de evidencia al ser removida de su posición original. En vez de usar sus iniciales para marcar evidencia, cuando

sea necesario utilice números consecutivos o el número de serie de su insignia; nunca use una "X". Siempre que sea posible, anote - en la muestra la fecha de colección, el número del caso y otra información similar para su identificación.

Para marcar objetos metálicos, se puede usar herramienta, tal como un rayador, estilete o un vibrador eléctrico. La tinta y la pluma se puede usar en artículos absorbentes, tales como documentos o ropa. Para los proyectiles de bajo calibre, los cuchillos, la joyería, o los objetos que sean demasiado pequeños para inscribirles datos, se deben usar pequeñas cajitas (cajitas de píldoras o frascos de plástico), selladas y con identificación apropiada escribiendo la información necesaria en una etiqueta que se pegue en la cajita, o escribiendo directamente a los lados de la misma. Los líquidos y pastas deben conservarse en sus depósitos originales, siempre que sea posible, sellándolos apropiadamente y poniéndoles una etiqueta.

La marca de identificación nunca se debe poner donde pueden existir huellas de evidencia, como en los flancos de una bala -- disparada. Si las muestras consisten en objetos similares, las identificaciones se deben hacer en el mismo lugar de cada objeto. Si -- una muestra tiene partes removibles se debe marcar cada una de las partes principales.

### EMPAQUE.

Ponga cada pieza de evidencia en un depósito separado. Las cajas de píldoras, sobres, tubos de ensayo, tarros, botellas y cartones que contengan evidencia, deben sellarse en forma tal, que no se pueda abrir sin romper el sello. Una vez que se selle un recipiente, escriba su nombre o número en el mismo sello, o a través de la tapa sellada de un sobre.

### ETIQUETAS DE IDENTIFICACION.

Después de marcar el artículo, póngalo en un depósito, séllelo y etiquételo. Las etiquetas o rótulos fijados a las muestras, deben identificar el caso, el número de inventario o de propiedad requisada y contestar a las siguientes preguntas: ¿Qué? ¿Dónde? ¿Quién? y en qué condiciones?

### MANTENER LA CONTINUIDAD DE POSESION DE LA EVIDENCIA.

Los métodos correctos empleados en la colección, marca y empaque de la evidencia, se pueden anular si usted no puede dar razón de las personas que la han manejado, examinado o almacenado. A todo este proceso que se relaciona con la evidencia se le llama "Cadena de posesión".

Esta cadena de posesión, se inicia cuando usted descubre la evidencia. Continúa hasta el momento en que los especímenes se

presentan en la Corte. Como oficial de testimonio, usted debe conocerla y ser capaz de establecer la posesión en todo momento. Si usted no puede informar sobre una firma, o cualquier etapa en el manejo de un objeto que se presente como prueba, la defensa inmediatamente pondrá en duda la integridad y admisibilidad de la evidencia y, lo más probable es que no permita su admisión en el caso.

Usted puede establecer la cadena de posesión y proteger la integridad de la evidencia, siguiendo estas formas de seguridad:

1. - Limite el número de individuos que manejan la evidencia desde el momento en que se encuentra, hasta el momento en que se presenta en la Corte.

2. - Si la evidencia deja de estar bajo su control:

- a) Indique en sus notas a quién fué entregada
- b) La fecha y la hora
- c) La razón por la que se entregó a otra persona
- d) Cuando y por quién fué devuelta.

3. - Asegúrese de que las personas que manejan la evidencia pongan su nombre, número de insignia y asignación en el paquete.

4. - Obtenga un recibo firmado por la persona a quien se entrega la evidencia. A su vez firme la relación de recibos o el reporte necesario, cuando la sección de objetos requisados le devuelva el obje

to para su presentación en una audiencia de la Corte o de un Jurado.

5. - Cuando devuelvan la evidencia, verifique usted la marca de identificación del espécimen y asegúrese de que es el mismo objeto que usted entregó. Determinar si se encuentra en las mismas condiciones que cuando fué requerido.

6. - Cuando le devuelvan la evidencia, asegúrese de que se encuentre en las mismas condiciones o estado que cuando usted la encontró. Usted debe estar pendiente de las condiciones del espécimen y si éste ha sufrido cambios durante el análisis de laboratorio. - Cualquier cambio en su apariencia física deberá declararse ante la Corte.

#### GUIA PARA LA EVIDENCIA. -

OBJETO. - Ropa (Manchas de sangre).

VALOR DE LA INVESTIGACION. - Se puede determinar si la sangre es humana o de animal. Las manchas de sangre se deben analizar para determinar los grupos sanguíneos, usados para determinar si las manchas encontradas corresponden a el mismo supuesto sospechoso o a otra persona.

PRECAUCIONES EN EL MANEJO. - Seque la ropa en el aire, evitando el calor, o un ventilador, una vez seca el área manchada -- cúbrala con un papel limpio. No corte o doble en la zona de la mancha.

Doble la ropa en tal forma que el área de la mancha queda plana. Anote si las manchas estaban húmedas o secas cuando fueron descubiertas.

**OBJETO.** - Sangre. Sobre objetos que se pueden remover para exámen. En pisos, alfombras, paredes, etc.

**VALOR DE LA INVESTIGACION.** - Se pueden determinar grupos sanguíneos y naturaleza humana o animal. Salpicaduras y gotas - pueden indicar la distancia, dirección y velocidad de la caída desde la - herida o el objeto cubierto con sangre al punto donde se descubrieron.

**PRECAUCIONES EN EL MANEJO.** - La mancha se seca en el aire, proteja la mancha con papel limpio, pegando con cinta de celofán o cinta adhesiva; proteja la mancha en el suelo, cubriéndola con un cazo o una caja limpia, si se cuenta con la ayuda de un técnico de laboratorio en la escena, éste etiquetará la muestra con toda la información.

Cuando las manchas son muy grandes y están en artículos - fácilmente transportables, sólo una parte de ellas se utiliza en el exámen, en este caso no es necesario describirlas tan cuidadosamente, - porque siempre se puede, con la ayuda de la sangre restante, reconstruir el aspecto original de las manchas. Las manchas de sangre pequeñas, de las que toda la sangre tiene que aprovecharse para el exámen, deberán fotografiarse o dibujarse, y su posición marcarse en la fotografía o dibujo del lugar del crimen.

## MANEJO.

### Manchas de sangre:

Una vez encontradas las manchas, se deben cuidar, evitando cualquier destrucción por parte de personas o animales. No se debe de practicar ninguna prueba en el sitio de los hechos. La huella por pequeña que sea deberá analizarse en el laboratorio.

Al localizarse las manchas de sangre, se procede a recoger - los objetos que las posean y remitirlas al laboratorio. En caso de encontrarse las manchas en objetos o sitios no trasladables, se procederá a rasparlas con una hojilla o navaja bien limpia y el polvillo recogerlo - en un sobre, o en un tubo de ensayo se debe colocar este polvo, se debe hacer una papeleta de las elaboradas en el comercio con el objeto de identificar cada mancha por separado.

Con relación al envío de artículos con manchas de sangre al laboratorio, debe tenerse presente la putrefacción de manchas de sangre, que puede ocurrir en el transporte. La sangre descompuesta es inapropiada para hacer un análisis completo y concluyente. Cuando - la sangre se seca en la ropa, necesita únicamente exponerse a la atmósfera normal. Se evitará cualquier proceso que acelere el secado de la muestra, como por ejemplo no se debe someter a la luz solar o al calor.

Se sugiere que las muestras de sangre líquida se envíe en -

tubos completamente estériles, por correo aéreo con entrega inmediata, o al menos que se pueda hacer una entrega más rápida en algún vehículo disponible.

La persona encargada de recoger las muestras en la escena del crimen, deberá ir preparada con los objetos necesarios para recoger todas las evidencias, utilizando cajas de píldoras, sobres de celofán, - cinta adhesiva, sobres blancos, bolsas, platos de papel o cartón, conos de los utilizados para nieve, algodón, reglas, membretes y otros artículos útiles para colectar la evidencia.

Al recobrase la evidencia, inmediatamente se identificará - con todos los datos, al recoger la muestra, se tratará que el paso por - otras manos sea el mínimo posible, nunca se deberá omitir ninguna - pieza por pequeña que sea, en ocasiones es imposible llevar todo ---- artículo al laboratorio. La muestra deberá marcarse, incluyendo nombre de la persona, fecha, nombre del investigador, del doctor, y otras descripciones, si existen, cuando la muestra sea sangre seca, todos estos datos estarán fuera del recipiente que la contiene; cuando es todo el objeto -- el que se incluye, se recomienda anotarlo directamente en el lugar donde no interfiera con algún exámen subsecuente.

En la preservación de manchas de sangre, y en general de sangre el problema es la putrefacción, la sangre debidamente preservada es - para determinar su origen, ya sea animal o humano, si la muestra es --

grande podrá determinarse su grupo sanguíneo, pero todo esto se imposibilita cuando se presenta la putrefacción, generalmente sucede esto, cuando los objetos se empacan con la sangre fresca, por lo que ésta se deberá secar a temperatura ambiente, ya que el sol o el calor producen en ella cambios químicos que dificultan el análisis, no usaremos para secar la sangre un abanico, ya que en ocasiones, mezclada a la sangre se encuentran cabellos o fibras evidentes que al soplar con el abanico pueden volar y perderse, si la sangre se encuentra en la ropa, esta deberá extenderse para acelerar el secado, ya seca la sangre, los artículos se envuelven separadamente, y con seguridad. Cuando la sangre se encuentra en una tela que impida su traslado total, deberá cortarse un área grande fuera del contenido de sangre. En caso de hacer comparaciones entre la sangre de la víctima y la de un sospechoso, las muestras deberán ser tomadas por un doctor o persona preparada, consistirá de 5 ml. aproximadamente y puesto sobre un envase estéril, si la muestra se envía a un lugar cercano no habrá necesidad de refrigerar la muestra.

Para transportar las muestras de sangre, deberán entregarse al laboratorista inalteradas y perfectamente conservadas. Esto es necesario para establecer una cadena de datos de indentificación desde el lugar donde se cometió el delito o desde donde se obtuvo la muestra, hasta el laboratorio de criminología. Si no se hace ésto, el tribunal no admitirá como prueba el testimonio del laboratorista.

## C A P I T U L O VI.

### PROCEDIMIENTOS DE ESTUDIO Y CONSERVACION.

#### EXAMEN FISICO DE LAS MANCHAS DE SANGRE. -

El exámen físico de las manchas de sangre es de suma - importancia, ya que de su situación, forma dimensiones, etc., suelen desprenderse conclusiones, capaces por sí solas en algunos casos, de diferenciar un homicidio de un supuesto suicidio, o de precisar el grado de culpabilidad respecto a la forma en que se cometió el crimen; si - hubo lucha o no; la posición que guardaba la víctima al ser agredida; si el cadáver fué desplazado posteriormente de su posición primitiva; la -- trayectoria seguida por el delincuente en su huída, en el caso de ir --- herido, etc.

- El aspecto que presente una mancha de sangre variará --- según la clase de material en que está despositado, y según que éste sea liso o rugoso, compacto o esponjoso. Igualmente la situación y - forma de las manchas dependerá de la naturaleza y situación de la lesión que las causó; de la posición que guardaba la víctima; de sus movimientos y de los del homicida, etc. Estos factores hacen variar la can-

tividad de sangre derramada, la altura y el ángulo de caída, y por consecuencia, la conformación de las manchas.

Así por ejemplo, mientras una hemorragia venosa produce oleadas lentas de sangre, con bordes estriados, la sangre arterial se proyecta en chorros intermitentes, formando gotas dispersas y abultadas.

Cuando la hemorragia es abundante, se forma un charco de sangre, de contornos irregulares y variables. La presencia en el charco de gotas secundarias causadas por rebotes, de forma oval más o menos alargada, indica que el derrame de sangre fué desde cierta altura.

Si una mancha se ha enjuagado, se forman estrías paralelas, y si se ha lavado en forma incompleta, el centro de la mancha toma un color más oscuro, disminuyendo su matiz gradualmente hacia la periferia.

La caída de una gota de sangre sobre un plano horizontal, produce una mancha circular, neta y sin salpicaduras, si la altura de que cae es menor de diez centímetros, pero ya a ésta altura sus bordes empiezan a formar un festoneado y a mayores alturas un dentado, con salientes y salpicaduras tanto más apartadas del centro, cuanto --

mayor es la altura de caída y mayor el volumen de la gota.

Dado que las referencias bibliográficas sobre éste punto son además de escasas imprecisas, y que los dos o tres autores que se ocupan de ello se limitan o bien a reproducir viejos grabados que no llenan los requisitos de exactitud que exige una práctica experimental de tal naturaleza, o bien hacer un simple dibujo de tales manchas, -- sin referencias métricas, he considerado necesario constatar la exactitud de los resultados, procediendo a efectuar numerosas pruebas de laboratorio con sangre humana, completamente fresca, goteada desde diferentes alturas, en reposo y en movimiento; con distintos ángulos de inclinación; en goteo continuo; con proyecciones bruscas, etc.; sobre varias superficies de diferente grado de textura y de absorción.

Del material así acumulado, se ha seleccionado para ilustrar este trabajo, una amplia colección de pruebas efectuadas sobre cartulinas cuya superficie no es muy satinada, ofrece un tipo de porosidad media, muy útil como referencia gráfica. Además, los fotograbados fueron hechos bajo nuestra supervisión, exactamente al mismo tamaño de las manchas originales, para que el lector tenga una orientación más completa y real al respecto.

A continuación se reprodujeron manchas obtenidas por

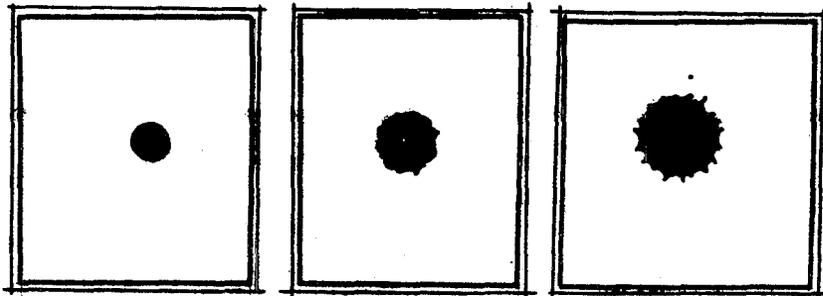
goteo de sangre fresca, sin movimiento, sobre un plano horizontal, - desde alturas cuidadosamente medidas de cinco, diez, veinte, treinta, cuarenta, cincuenta y cien centímetros.

Nótese que a cinco centímetros de altura, la mancha es muy pequeña y sus bordes netos. A diez centímetros, los bordes son festoneados, y a veinte, además de aumentar el tamaño de la mancha, sus bordes son ya claramente dentados. De treinta centímetros en -- adelante, empiezan a presentarse salpicaduras, aumenta el tamaño de la mancha y el número de los dientes, pues el dentado se hace más fino, y ya sobre los cincuenta centímetros, empiezan los dientes a formar prolongaciones o estrías, más o menos punteadas, cuyo número y extensión es notable en gotas caídas a un metro de altura.

Por lo tanto, el exámen de una gota de sangre que cayó sobre el suelo en la escena del crimen, nos permite establecer naturalmente con ciertos márgenes de tolerancia y dentro de ciertos límites, la altura de que cayó, sin que exista confusión entre una gota -- caída desde cinco o diez centímetros por ejemplo, con otra gota caída desde cincuenta o cien centímetros.

GOTAS DE SANGRE CAIDAS DESDE DIFERENTES ALTURAS

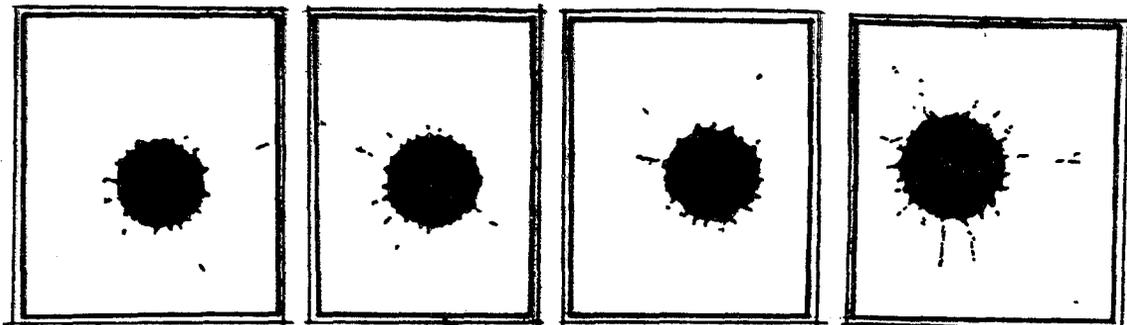
SOBRE UN PLANO HORIZONTAL



A 5 cm.

A 10 cm.

A 20 cm.



A 30 cm.

A 40 cm.

A 50 cm.

A 100 cm.

Los resultados de las pruebas con que se ilustra éste trabajo, deberán servir únicamente de orientación, ya que el borde --- más o menos dentado de las gotas y las proyecciones de ellas, pueden variar con el tamaño de las gotas, su estado de coagulación en el momento de caer, y la clase del material muy poroso, pues prácticamente es embebida por éste.

Por lo tanto es aconsejable, que en aquellos casos en que - sea verdaderamente interesante establecer con absoluta precisión y certeza la altura de que cayó una gota de sangre, se hagan pruebas de laboratorio, a distintas alturas, sobre la misma clase de material en que ésta se encuentra.

Cuando la sangre gotea, sin movimiento, sobre un plano - inclinado, forma manchas ovales o alargadas con escurrimientos -- más o menos largos, según sea mayor o menor el ángulo de inclinación del plano sobre el cual ha caído la sangre.

A continuación reproducimos los resultados obtenidos en -- pruebas efectuadas, sobre cartulina análoga a la utilizada en las pruebas anteriores, dejando caer una gota de sangre fresca desde una altura de diez centímetros y sin movimiento, en planos con inclinaciones exactas de treinta, cuarenta y cinco, sesenta y noventa grados.

En éstas pruebas, reproducimos exactamente el tamaño del original, se aprecia que cuando el plano tiene una inclinación de -- treinta grados, aparece ya un alargamiento de la gota, la cual toma - una forma aovada. Además, cuando la sangre por la ley de la grave-- dad tiende a acumularse en la parte inferior, la mitad superior de la gota aparecerá decolorada con respecto a la mitad inferior, lo que -- tiene importancia en el caso de que, ya seca la gota, se haya movido el material en que se encuentra y puesto en posición horizontal; la forma de la gota nos dirá la inclinación que tenía el material cuando ella cayó sobre él, y la decoloración nos indicará la parte superior del plano de inclinación.

A cuarenta y cinco grados la gota, aunque con aspecto -- análogo la anterior, forma un escurrimiento en su parte inferior, - tomando en conjunto la que podríamos llamar "forma de raqueta", - La parte superior presenta su zona decoloración, y el extremo inferior en que el escurrimiento de sangre se detuvo por la coagula-- ción, se notará un abultamiento.

A 60°, la forma de la gota cambia alargandose y tomando - aspecto de lágrima, con decoloración en la parte superior y con --- abultamiento en la inferior. (Las gotas caídas en movimiento rápi-

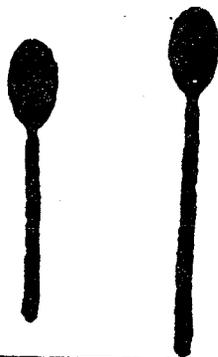
do sobre un plano horizontal, tiene como ya veremos, una forma - semejante, pero no presenta el característico abultamiento en la -- extremidad de su alargamiento, lo que permite diferenciarlas).

Por último, a noventa grados, se forma una simple línea de escurrimiento, más o menos larga, de coloración casi uniforme a lo largo de ella y con su abultamiento en la parte inferior el cual permite establecer, cuando ya el material ha sido movido de su primitiva posición vertical, cuál era la parte inferior.

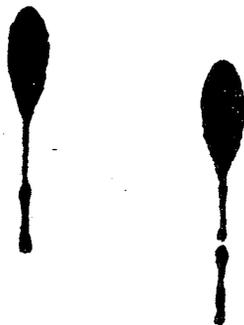
GOTAS DE SANGRE CAIDAS A DIEZ CENTIMETROS  
DE ALTURA SOBRE UN PLANO INCLINADO.



Inclinación: 30°



Inclinación: 45°



Inclinación: 60°

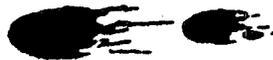


Inclinación: 90°

Cuando la gota de sangre caé sobre un plano horizontal -  
yendo animada de movimiento, producirá manchas típicas.

Si el movimiento es lento, la mancha presentará en uno -  
de sus lados, estrías o alargamientos, que indicarán precisamente -  
la dirección y el sentido del movimiento.

GOTAS DE SANGRE CAIDAS EN MOVIMIENTO LENTO SOBRE UN PLANO HORIZONTAL.



Quando el movimiento es rápido, la mancha que deja una gota de sangre al caer sobre un plano horizontal, toma "forma de lágrima", es decir, una forma oval terminada por un alargamiento o estría en uno de sus extremos, tanto más prolongada, cuanto más rápida haya sido dicho movimiento.

Este alargamiento o estría única de la gota, nos marcará exactamente, la dirección y el sentido del movimiento, lo que nos permite establecer por ejemplo, si una persona entró herida o si salió herida de una habitación, o bien fijar el rumbo que siguió el asesino en su huida.

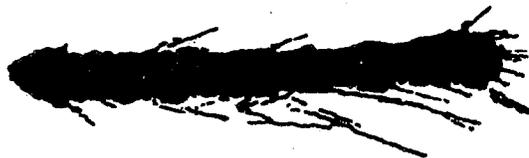
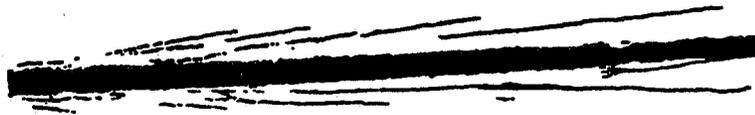
DIFERENTES GOTAS DE SANGRE CAIDAS EN MOVIMIENTO RAPIDO.



Un caso particular, que puede ser causa de error para el no experimentado, se presenta cuando la sangre gotea de la mano o del brazo de una persona que va caminando, ya que el brazo al caminar, se mueve cambiando constantemente el sentido de su movimiento, lo que produce gotas sucesivas pero cuyos alargamientos son opuestos a intervalos. La sucesión de éstas gotas indicará únicamente la dirección seguida por el individuo de cuyo brazo o mano cayeron, pero no en el sentido de su marcha. En éste caso especial, si bien las gotas no nos aclaran si la persona entró herida o salió herida, por lo menos nos indican la dirección que siguió, y que la herida, que produjo el goteo se encuentra en un brazo o en una mano, lo que tiene valor para posteriores investigaciones. Si la lesión está en el pié o en una pierna, no ocurrirá ésto; las gotas caídas tendrán su alargamiento en un solo sentido, que será como ya dijimos, el de la mancha de la persona herida.

Cuando un goteo interrumpido de sangre cae sobre un plano horizontal producido por una persona herida que camina sobre él, se formará un "rastro de sangre", constituido por una franja central más o menos ancha según la cantidad de la hemorragia y por estrías oblicuas a ambos lados. La dirección de la mancha es la de la franja central, y el sentido del movimiento será hacia el lado de ella en que las estrías se abren o desplazan, apartándose de dicha franja central.

**RASTRO DE SANGRE DEJADO POR UN GOTEO  
ININTERRUMPIDO SOBRE UN PLANO HORIZONTAL.**



Cuando hay proyecciones bruscas de sangre, se forman manchas de contorno redondeado pero con largas estrías en uno de los extremos, cuyo número y extensión, así como el tamaño de las manchas, dependerá de la mayor o menor cantidad de sangre proyectada y de lo brusco del movimiento. Dichas estrías marcarán la dirección y sentido del movimiento que iban animadas, al ser proyectadas.

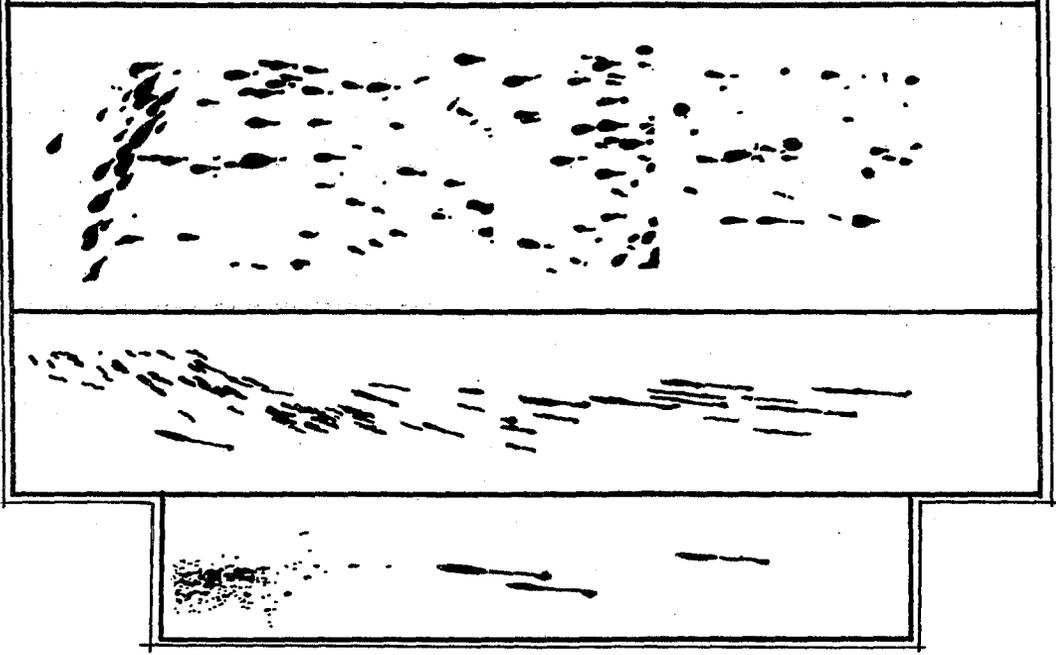
PROYECCIONES BRUSCAS DE SANGRE.



Las gotas de sangre proyectadas oblicuamente sobre una superficie vertical como una pared, toman forma alargada, con salpicaduras laterales; el eje más largo y las salpicaduras indicarán la dirección y el sentido en que fueron proyectadas. Cuando la proyección de sangre es abundante, la superficie vertical en que cae no la absorberá en seguida; la sangre se acumulará en la parte inferior y formará un escurrimiento en línea recta hacia el suelo.

Es conveniente recordar que las salpicaduras o chisquetes de sangre que se encuentran sobre las paredes, provienen casi siempre de sangre arterial, ya que la sangre venosa sale sin fuerza, mientras que las de las arterias brota a sacudidas accionada por los latidos del corazón.

CHISQUETES DE SANGRE.



## EXAMEN QUIMICO DE LAS MANCHAS DE SANGRE.

El estudio, tanto morfológico como de los demás caracteres físicos de las manchas de sangre, no es suficiente para poder diferenciar con absoluta seguridad de otras manchas semejantes causadas por vino, tinta roja, pintura, jugos de frutas, etc.; por lo que es necesario someterlas a reacciones químicas y pruebas para su identificación.

Por lo tanto, todas aquellas manchas que por su aspecto o coloración fueren sospechosas de ser de sangre, se muestrearán para su análisis. Hay que tomar en cuenta, que las manchas de sangre no siempre tienen un color rojo parduzco. El tiempo transcurrido desde que se produjo la mancha, la temperatura y la naturaleza de la superficie sobre la que cayó la sangre, pueden modificar notablemente ese color. Así por ejemplo, las manchas antiguas suelen tomar un color pardo orín que resulta engañoso, y cuando están sobre papeles o telas de colores, adquieren a veces tonos increíbles. Además, con el tiempo, las manchas de sangre pierden el brillo que tienen cuando son recientes.

Así pues, es conveniente muestrear todas aquellas manchas que representen alguna probabilidad de ser de sangre y no des-

cartarlas con ligereza.

Si la mancha está seca, se raspará con cuidado recogiendo - todas las pequeñas partículas en un papel. En telas, bastará raspar - la mancha con una pequeña navaja, o con una aguja si la mancha de sangre se encuentra en las costuras, para desprender pequeñas porciones suficientes para el análisis.

Cuando la mancha ocupe en la tela una área muy pequeña, o esté en capa tan delgada que no permita ser raspada, se pondrá la - porción de tela que la contiene en maceración en agua destilada o en suero fisiológico, a fin de obtener un extracto que se utilizará des--pués para el análisis.

La sangre fresca se disuelve fácilmente en agua fría o en - suero fisiológico, pero después de varios días su disolución es más - lenta y cuando data de varias semanas casi no es soluble en el agua, - pero si en una solución de potasa al 2%. Después de varios meses, - debe emplearse para disolverla, una solución de potasa al 33%, o bien utilizar ácido acético o amoníaco.

En las armas blancas, como los cuchillos y puñales, se loca - lizará la sangre en la juntura del mango, y en las navajas de bolsillo en la ranura que tienen a lo largo del lomo. En algunos casos nos ha

Para obtener buen resultado frotar estas partes con un pequeño pedazo de algodón humedecido con agua destilada, el cual se pone luego a macerar en otra pequeña cantidad de agua destilada, exprimiéndolo después perfectamente y utilizando dicha agua para los análisis.

Existen gran número de pruebas generales de laboratorio que los tratados aconsejan para comprobar la presencia de sangre en una mancha, pero casi todas ellas adolecen del defecto de que o bien resultan positivas con otros líquidos orgánicos además de la sangre, o bien de que solo nos sirven para saber que la mancha es de sangre, pero sin precisar si ésta es humana. El esclarecimiento de éste último, de gran importancia en Química Legal, requiere pruebas especiales de las que más adelante nos ocuparemos.

Por lo tanto, conviene hacer tres grupos de las reacciones -- generalmente usadas para determinar si una mancha es o no de sangre: Reacciones de orientación, reacciones de probabilidad y reacciones de -- certeza.

### REACCIONES DE ORIENTACION

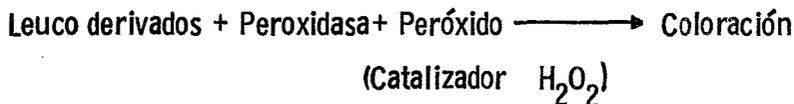
METODO DE LA TINTURA DE GUAYACO: REACCION DE VAN DEEN.

MODIFICACION DE FLORENCE. TECNICA DE TAYLOR.

Este método es muy útil cuando nos hallamos en presencia de gran cantidad de manchas y queremos eliminar rápidamente las que no sean de sangre. El ensayo con la tintura de guayaco no es absolutamente probatorio de la sangre, porque hay otros líquidos orgánicos como la leche, el pus, el mucus nasal, el sudor, etc., así como el contacto de un óxido metálico herrumbre o metales finamente pulverizados, hierro, níquel, cobre, que dan positiva la reacción; pero tienen gran valor, dada su sensibilidad, cuando la reacción es negativa. De resultar positiva, debe siempre comprobarse con otras reacciones.

El método se basa en el hecho de que algunas materias colorantes poseen la propiedad de ser incoloras en estado reducido (leuco derivados) y de recuperar su color original por la oxidación en presencia de una peroxidasa y de un peróxido, tal como el agua oxigenada o la esencia de trementina ozonizada.

La reacción colorimétrica, puede esquematizarse así:



La sangre, por su pigmento ferruginoso tetrapirrólico, es una de las peroxidosas más activas, y la reacción colorimétrica se ob-

serva igualmente, cuando la sangre está desecada o putrefacta. Pero además de la sangre, otras peroxidases (leche, jugos de frutas, etc.), así como ciertos catalizadores minerales (sales de cobre níquel, cobalto, fierro, etc.), y la mayor parte de los oxidantes (permanganatos, bicromatos, etc.), pueden igualmente dar positivas estas reacciones, por lo que no pueden considerarse como específicas de la sangre, sino simplemente como reacciones de probabilidad.

Sobre estas bases, la reacción de Van Deen se funda en -- que cuando se añade a una solución de sangre en agua destilada, unas gotas de tñtura de resina de guayaco, recientemente preparada y algunas gotas de esencia de trementina antigua o de agua oxigenada, se produce en pocos segundos una coloración verde pálido que vira al -- azul claro y después al azul oscuro. Si la coloración tarda mucho en presentarse, la prueba no tiene valor.

La tintura de guayaco se prepara en el momento de usarla, disolviendo una poca de resina de guayaco, tomándola del centro de un pedazo algo grueso, en alcohol de 95, y filtrando después. (Se -- recomiendan 5 gramos de resina de guayaco, en 100 ml. de alcohol de 95).

La esencia de trementina que se use en la prueba, debe ser antigua para que, habiendo estado en contacto con el aire, puede pro

ducir acción ozonizadora, pero también puede usarse para este fin - agua oxigenada, de preferencia procedente de un frasco recién abierto, para estar seguros de su acción.

Un método aconsejable en algunos casos es el siguiente: -- En un vidrio de reloj bien seco, se pone a macerar en agua destilada un fragmento de la mancha por examinar, poniendo el cristal sobre una hoja de papel blanco para poder apreciar las coloraciones. Se añade a la maceración, una gota de tintura de guayaco y una gota de esencia trementina ozonizada o de agua oxigenada, se agita la solución y al cabo de unos segundos aparece la coloración.

La técnica seguida por Van Deen, consiste en tomar un trozo de papel filtro o de papel secante blanco, previamente tomado para estar seguros de que no contiene algún oxidante que azulee el guayaco, y encima se coloca un fragmento de la mancha a analizar, o bien algunas gotas de la solución de dicha mancha, vertiendo encima algunas gotas de tintura de guayaco recientemente preparada y unas gotas de esencia de trementina ozonizada o de agua oxigenada. La presencia de sangre es probable, si al cabo de algunos segundos aparece el color azulado.

Florence modificó la reacción de Van Deen, para hacerla aplicable a las manchas de sangre sobre yeso, las cuales toman un

color café claro muy distinto del de la sangre, y que no ceden al agua ni a otros disolventes, por lo que no es aplicable en ellas la técnica de Van Deen. Florence aconseja en éstos casos, aplicar sobre la mancha una gota de tintura de guayaco, otra de esencia de trementina o de agua oxigenada, y una gota de piridina. La sensibilidad de la reacción es considerable y su especificidad resulta aumentada.

El método seguido por Taylor, al estudiar la reacción de Van Deen tiene la ventaja de que deja inalterable la mancha y permite destacar la presencia de sangre en tejidos negros o azules, en los cuales la coloración de la reacción sería difícil de percibir.

Para ello se toma un papel filtro blanco, se empapa en agua destilada y se comprueba su neutralidad aplicando sobre él los reactivos, es decir, la tintura de guayaco y la esencia de trementina. Una vez seguros de que el papel no contiene impurezas que puedan falsear la prueba, se aplica empapado de agua destilada, sobre la superficie de tela a examinar, presionándolo con un agitador de vidrio rodado -- sobre él, o bien poniéndolo en un chasis-prensa de los usados en -- fotografía, para que la adherencia del papel a la tela sea perfecta. -- Después de un cierto tiempo, que dependerá entre otros factores de la antigüedad de la mancha, las partes de la tela manchadas de sangre -- dejarán impresiones sobre el papel, las que serán reveladas aplicando

sobre él la tintura de guayaco y la esencia de trementina o el agua - oxigenada, como ya queda dicho, con lo que aparecerá la coloración - verde que luego pasa a color azul.

El método de la tintura de guayaco, como ya se mencionó, no es concluyente y solo tiene valor cuando es negativo, lo que evita tener que recurrir a otras reacciones. No debe utilizarse para buscar manchas de sangre en metales o en armas oxidadas, pues el guayaco adquiere el color azul con las huellas de herrumbre. Tampoco es aconsejable aplicarlo en manchas de sangre antiguas calentada o putrefacta, porque algunas veces no se obtiene la coloración azul.

#### METODO DEL AGUA OXIGENADA.

#### REACCION DE LAS CATALASAS. - TECNICA DE SCHAENBEIN.

Una solución de sangre en agua destilada, puesta en un tubo de ensayo, produce en presencia de una gota de agua oxigenada --- gran cantidad de burbujas formando un espuma blanquecina en la superficie del líquido, en virtud de la acción de un fermento sanguíneo, en Argentina, el Dr. Luis Cattáneo a destacado experimentalmente el - valor de ésta reacción de las catalasas, apreciando que la intensidad -- de la misma, es distinta con la sangre humana y con la de animales. -

La técnica aconsejada por Schaenbein, consiste en observar al microscopio un pedazo de tela manchada de sangre, o una pequeña porción de la mancha obtenida por raspado, dejando caer en el borde del cubreobjetos una gota de agua oxigenada, con la que se formará -- una espuma constituída por burbujas de oxígeno.

El valor de ésta reacción es solo de orientación, porque -- también tiene lugar con un gran número de secreciones orgánicas (saliva, pus, sudor, esperma, etc.) así como con la herrumbre y otros productos químicos. Además tiene la desventaja de que las burbujas - no se forman cuando la sangre se encuentra en presencia de ciertas sales o de determinados ácidos, así como tampoco con la sangre calen\_ tada. Sin embargo se producen con la sangre antigua o putrefacta, - que en comparación con el método de la tintura de guayaco es una --- ventaja.

Análogos resultados a los del agua oxigenada se obtienen -- empleando en su lugar el hipobromito de sodio.

## REACCIONES DE PROBABILIDAD

### METODO DE LA BENCIDINA: REACCION DE ADLER.

Este método es muy práctico y se usa frecuentemente dada - su sencillez.



La mancha de sangre se disuelve en una pequeña cantidad de agua destilada, se pone en un vidrio de reloj, y se le adiciona un -- mililitro de una solución de ácido acético saturada de bencidina al 30% y dos gotas de agua oxigenada diluída a un tercio.

Una coloración azul prusia, claramente apreciable si se co loca el vidrio de reloj sobre un papel blanco, indica la presencia de - sangre.

Algunas veces conviene hacer un raspado de la mancha de sangre, colocando las partículas obtenidas sobre un papel filtro grue so o sobre un papel secante, y aplicar directamente sobre ellas el reac tivo de Adler y el agua oxigenada. En estas condiciones, cada partícula de sangre constituirá un centro de irradiación de estrías azules.

La reacción de Adler tiene la desventaja de que es positiva - con algunas sales de hierro, particularmente con la herrumbre, así como con las oxidasas de los cereales y de las legumbres y con algu- nas sustancias minerales como la arena, la piedra pómez, etc. Sin embargo, con la ebullición moderada pueden destruirse las oxidasas, sin modificar la hemoglobina de la sangre hasta el punto de impedir la actuar sobre el reactivo.

La reacción de Adler, aunque no es específica para la sanu

gre es muy sensible y acusa la presencia de sangre a una dilución de 1: 200 000 y aún mayor, y dada su sencillez, su uso es muy frecuente en los laboratorios de Química Legal.

Aumentando la cantidad de agua oxigenada, aumentará la -- sensibilidad de la reacción, mientras que una mayor viveza en el color se logrará aumentando la cantidad de Bencidina.

#### METODO DE LA PIRIDINA. -

Este método suele recomendarse para la identificación de -- manchas de sangre cuando éstas son antiguas.

Primeramente se hace extracto, humedeciendo raspaduras de la mancha, con una pequeña cantidad de Piridina mezclada con - un poco de ácido acético glacial y alrededor de una tercera parte de - su volúmen de éter. Homogeneizada perfectamente la mezcla se deja separar el éter.

Sobre un papel filtro grueso, se espolvorea una pequeña -- cantidad de Piridina, se añaden unas gotas de ácido acético glacial y otras del extracto que habíamos obtenido de la mancha de sangre. -- Se deja evaporar el éter y se añaden unas gotas de agua oxigenada -- fresca, diluída.

Si la mancha muestreada es de sangre, aparecerá una coloración azul o azul verdosa, debiendo esperar cinco minutos antes de reportar negativa la prueba.

Este método, usado en Alemania, se funda en el hecho de que la hemina, o sea el clorhidrato de hematina, que da el color rojo a la sangre se encuentra en mayor proporción en las manchas de sangre antiguas.

#### METODO DEL PIRAMIDON. -

Se prepara el siguiente reactivo:

Piramidón	5 g.
Alcohol de 90°	100 ml.

De la mancha a analizar, previamente diluída en agua destilada, se toman tres o cuatro mililitros y se colocan en un tubo de ensayo, agregándole otro tanto del reactivo con Piramidón, así como seis a ocho gotas de ácido acético al tercio y cinco o seis gotas de agua oxigenada a 12 volúmenes.

Si la mancha era de sangre y está en bastante cantidad aparecerá instantáneamente un color violeta intenso, pero según la cantidad de sangre la coloración tardará más o menos tiempo en presentar

se. Cuando solo hay vestigios de sangre, la coloración aparece antes de 15 minutos en forma de color azul violeta, que va aumentando en intensidad, para disminuir después y terminar desapareciendo.

METODO DE MEYER. -

El reactivo se prepara con:

Potasa anhidra en pastillas	20 g.
Fenolftaleína	2 g.
Agua destilada	100 ml.

En el agua destilada, caliente, se disuelve la potasa y la -- fenolftaleína y luego se agregan 15 g. de zinc puro finamente pulverizado. Se calienta a ebullición y el líquido rojo al principio, se va decolorando poco a poco. Lograda la decoloración, se filtra inmediatamente, pués la ebullición no debe de durar más de 5 minutos.

Así se obtiene un líquido ligermante amarillo, que debe conservarse en presencia de aire y toda causa de oxidación exterior. Es conveniente que haya un desprendimiento activo de hidrógeno en la solución, lo que se logra poniendo un poco de polvo de zinc, en el - fondo del frasco en que se conserva el reactivo. Es aconsejable también, mantener dicho frasco en refrigeración.

Para efectuar la reacción, se diluye la mancha problema en agua destilada y se toman algunos mililitros de la solución en un tubo de ensayo, añadiendo una tercera parte del reactivo y algunas gotas - de agua oxigenada recientemente preparada. Generalmente se emplean dos gotas de agua oxigenada por cada mililitro de reactivo. Una coloración roja, que debe ser inmediata, difusa y persistente, indica la presencia de sangre.

El valor de la reacción de Meyer es casi absoluta y de una -- sensibilidad extrema, ya que alcanza a ser apreciable hasta con una solución de sangre al diezmillonésimo. Sin embargo, es menos sen sible para la sangre diluida en un medio orgánico (orina, etc.) que para la sangre simplemente diluida en agua destilada; no obstante, -- permite poner de manifiesto la presencia de sangre hasta una dilución al 1 por 20 000.

Una de las ventajas de la reacción de Meyer es que se produ ce con sangre putrefacta, y dada su gran sensibilidad, permite demostrar la presencia de sangre en objetos que han sido lavados con agua, jabón o agua de Javel. Incluso cuando la sangre ha sido calentada - hasta  $100^{\circ}$  C y aún más, la reacción se verifica. Es igualmente posi tiva en presencia de amoniáco, lo que permite disolver la sangre en amoniáco puro separando la hemoglobina de otra sustancia tintórea.

Líquidos orgánicos como orina, pus, saliva, no dan reacción positiva más que cuando continen vestigios de sangre; sin embargo, -- las oxidadas dan positiva la reacción, pero como pueden destruirse por el calor se elimina esta causa de error, pues la sangre sigue dando -- positividad en la reacción a pesar del calentamiento.

La reacción de Meyer es negativa con la herrumbre, papel, madera, arena y tierra.

Son las causas de error de esta reacción, la presencia de - ácidos minerales u orgánicos, pero la dilución permite evitarlo; así- mismo, algunas sustancias como permanganato de potasio, los hipocloritos, los hipobromitos, enrojecen el reactivo de Meyer, pero esto - ocurre antes de añadir el agua oxigenada, lo que no sucede con la -- sangre, y por tanto puede evitarse esta causa de error. También las sales de cobre dan positiva la reacción, lo que es muy desfavorable - sobre todo cuando la mancha a analizar se encuentra en un objeto - de cobre o de latón, pero aún en este caso, la coloración obtenida es más violácea, y no rojo fucsina como en la sangre, lo que permite -- distinguirla.

La reacción de Meyer es muy usada en los laboratorios de análisis clínicos para la determinación de sangre en líquidos orgánil

cos; es también de uso frecuente en Química Legal, y la hemos aplicado siempre con resultados satisfactorios.

La reacción de Meyer, que es negativa con la herrumbre, se complementa con la reacción de Adler que es negativa con las sales de cobre. Por lo tanto, cuando una mancha sospechosa dé resultados -- positivos con las reacciones de Meyer y Adler, se llega a una seguridad casi absoluta, de que la mancha es de sangre, lo que es importante -- cuando no puede efectuarse una "reacción de certeza".

Algunas veces, en el ejercicio profesional, no hemos visto -- en la necesidad imprevista de muestrear manchas sospechosas, sin -- poder hacer un previo exámen eliminatorio de ellas, ni obtener las -- muestras en forma favorable, por encontrarnos alejados de centros de población. Esto ocurre frecuentemente en aquellos casos de accidentes automovilísticos en carreteras, en que la práctica de una diligencia judicial tendiente a establecer la forma y responsabilidad del accidente, se encuentran en el vehículo manchas sospechosas, cuyo origen y naturaleza, quiere la autoridad judicial en funciones, esclarecer de inmediato. En estos casos y en otros análogos, nos hemos limitado ante la premura del caso, a humedecer pequeñas porciones de algodón con agua destilada y a frotar con ellas las distintas partes en que se encuentran las manchas sospechosas de sangre, o aquellas -

otras en que pueda existir presencia de ella.

Estos algodones los hemos colocado separadamente en sobres debidamente rotulados, o envuelto en hojas de papel con indicaciones precisas en cada una de ellas, respecto del lugar o de la parte del vehículo en que se tomó la muestra, y ya en el laboratorio, hemos colocado los diferentes algodones en tubos de ensayo numerados, agregando a cada uno de ellos un poco de agua destilada, con el fin de que suelten en ella las sustancias recogidas por el frotamiento. Finalmente, hemos exprimido perfectamente dichos algodones, y el líquido recogido que contiene tierra y sustancias extrañas, es necesario diluirlo hasta que su transparencia permita hacer apreciable la coloración de la reacción.

Los resultados obtenidos con el reactivo de Meyer en las soluciones así obtenidas, han sido siempre claros y precisos, aún a diluciones muy grandes.

### REACCIONES DE CERTEZA

#### METODO DE TEICHMANN. -

Se basa en una reacción microquímica, descubierta por Tiechmann en 1853, con la que se obtienen cristales rómbicos con --

aristas muy limpios y extremidades oblícuas, de color marrón o castaño, debido a la transformación de la hemoglobina en clorhidrato de hematina. La hemina  $C_{34}H_{32}O_4N_4ClFe$ , tiene cuatro núcleos pirrólicos y cristaliza en romboedros microscópicos negro azulados, insolubles en agua, alcohol, éter, pero solubles en ácido acético.

Primeramente, se hace una maceración de la parte de tela manchada, en una solución de cloruro de sodio al 1 por 100, o bien en agua destilada o en suero fisiológico, pudiendo utilizarse un vidrio de reloj. Esta maceración será tanto más prolongada, cuanto más antigua sea la mancha y algunas veces serán necesarias varias horas para lograrla.

De la solución obtenida, se depositan unas gotas en un portaobjetos, se evapora a una temperatura de 40 a 50°, y se repite la operación varias veces hasta obtener un sedimento de sangre seca bien visible. En el centro se deja caer una gota de ácido acético glacial, que se hace evaporar rápidamente a la llama de un mechero Bunsen repitiendo la operación varias veces. Luego se observa la preparación al microscopio, en frío, con un aumento de 400 a 500 diámetros.

Otros autores aconsejan utilizar un cubre-objetos y poner las gotas de ácido acético en el borde para que penetren por capilaridad

entre el porta y cubre-objetos, sometiéndolo asimismo a ebullición a la llama y repitiendo varias veces la operación.

Obtenida la preparación, se observa al microscopio, y si la mancha es de sangre, se encontrarán los cristales de hemina, con las características ya mencionadas, y de preferencia en las partes - más alejadas del centro y alrededor del cubre-objetos, a donde han sido arrojadas por la ebullición. Estos cristales se presentan aislados unos de otros, o bien más frecuentemente, agrupados formando estrellas o cruces, son esencialmente estables y las preparaciones se conservan indefinidamente.

Si la mancha de sangre, en vez de estar sobre una tela se encuentra sobre un cuchillo o un trozo de madera por ejemplo, --- Balthazard aconseja desprender pequeñas partículas, mojarlas con una solución de cloruro de sodio al 1 por 100, dejarlas secar y calentar luego en ácido acético hasta ebullición, lo que permite encontrar en el posterior exámen microscópico, en la periferia de las partículas los cristales de hemina en un número considerable. Este procedimiento requerirá menos habilidad por parte del operador, que el antes des-- crito, cuya técnica es delicada y requiere experiencia en las manipuladoras.

La reacción de Tiechmann es bastante sensible, y permite --

obtener buenos resultados hasta con manchas pequeñas, e incluso con sangre cuya antigüedad se remonta a varios años, siendo suficiente encontrar algunos cristales bien característicos, para poder afirmar la presencia de sangre.

Esta reacción es muy característica y su única causa de error, es cuando se trabaja con ropas o telas teñidas con índigo, que dejan depositar cristales que resisten al ácido acético y cuya forma es semejante a los cristales de hemina. También los cristales de murexina son análogos a los de la hemina, pero rojos, y adquieren color violeta con la potasa, lo que permite diferenciarlos.

El método de Tiechmann, cuya certeza puede decirse que es absoluta, tiene el defecto de que necesita ser aplicado por operadores experimentados, dado lo delicado de su técnica. Personas poco prácticas, no suelen tener éxito al aplicar este método; incluso un resultado negativo obtenido por un especialista, deberá ser siempre comprobado repitiendo una o varias veces la reacción, o con otras reacciones de comprobación.

#### METODO DE STRYZOWSKY.-

Es una modificación del método de Tiechmann, substituyendo el ácido acético por el siguiente reactivo:

Alcohol	1 ml.
Agua	1 ml.
Acido acético glacial	1 ml.
Acido iodhídrico incoloro	2 gotas.
(Si es coloreado)	3 gotas.

El reactivo es de difícil conservación por lo que debe de prepararse en el momento en que se necesita, comprobando su acción con sangre fresca antes de usarlo.

La técnica a seguir es análoga a la de Tiechmann, y en presencia de sangre se obtienen cristales de iodhidrato de hematina, en forma de pequeños prismas rómbicos negros.

El método de Stryzowsky, rápido y muy seguro, es señalado por algunos autores como superior al de Tiechmann.

Cuando no se disponga de ácido iodhídrico, puede prepararse mezclando en un vaso de precipitado, 10 ml. de una solución concentrada de ioduro potásico, con diez ml. de otra de ácido tartárico, filtrando y recogiendo el filtrado en un tubo de ensayo que se tapa con tapón de corcho parafinado. El ácido iodhídrico debe prepararse cuando vaya a usarse; a lo más, una hora antes.

### METODO DEL BROMURO DE SODIO: -

Ante la dificultad de preparar y conservar el ácido iodhídrico utilizado en el método anterior, Locard recomienda sustituirlo por el ácido bromhídrico, según la técnica que se indica a continuación.

Se coloca en un porta-objetos, una pequeña partícula en -- estado seco, de la sustancia sospechosa, se cubre y se deja deslizar -- por capilaridad, unas gotas de solución de bromuro de sodio al 1 por -- 500, luego se calienta sin llegar a la ebullición y cuando la evapora-- ción ha terminado, se hacen pasar, también por capilaridad, unas go-- tas del siguiente reactivo:

Alcohol	1 ml.
Agua	1 ml.
Acido acético glacial	1 ml.

Luego se evapora de nuevo lentamente, sin necesidad de lle-- gar a sequedad completa.

Así se obtienen cristales rómbicos, voluminosos de color cao-- ba muy oscuro de bromohidrato de hematina, si la sustancia analiza-- da es sangre.

Cuando la mancha es débil o está muy diseminada en la tela,

en lugar de rasarla es más ventajoso hacer una maceración prolongada en agua fría y concentrar la solución obtenida, operando después -- como se mencionó.

#### METODO DE LECHA-MARZO. -

Consiste en la formación de cristales de hemocromógeno, de color anaranjado o rojo oscuro, en forma de agujas o tabletas rómbicas, a veces agrupadas en estrellas.

En un porta-objetos se disuelve la mancha a analizar con -- unas gotas de pirimidina, agregando luego una gota de la solución iodo-iodurada siguiente:

Iodo	25 g.
Ioduro potásico	0.5 g.
Alcohol de 96°	25.0 g.

Después se evapora completamente a calor suave y se agrega una gota de pirimidina y otra de sulfhidrato amónico y se cubre con -- un cubre objetos la preparación. Al cabo de algunos segundos se -- forman los cristales de hemocromógeno, los que pueden observarse al microscopio.

La reacción de Lecha-Marzo es mucho más sensible que la de Teichman, y da resultados positivos con manchas de sangre -- antiguas, con sangre calentada, putrefacta, o que ha sido tratada -- por ácidos o álcalis.

Se obtiene una mayor seguridad en el diagnóstico de la sangre observando los cristales de hemocromógeno al microespectroscopio y apreciando la producción de las dos bandas de absorción del hemocromógeno, más a la derecha que las de la oxihemoglobina; una -- más oscura, estrecha y neta entre D y E, y la otra más tardía y pálida hacia la derecha de E.

#### METODO ESPECTROSCOPICO. -

Cuando la mancha sospechosa de sangre es suficientemente grande, se disuelve en uno ó dos mililitros de agua destilada, se filtra el líquido obtenido y se coloca ante la hendidura del colimador del espectroscopio. Si hay sangre se observarán las bandas de absorción de la oxihemoglobina, ésto es, dos bandas situadas entre las rayas D y E. La adición de sulfhidrato amónico reduce la oxihemoglobina, y -- entonces se obtiene una sola banda de absorción llamada la banda de Stokes, situada entre las dos precedentes.

La sensibilidad del método espectroscópico es enorme, sobre todo usando la visión de profundidad, utilizando tubos largos y finos y examinándolos en el sentido de su longitud, según aconseja el Prof. Buzzo.

La sucesión de estos dos aspectos, esto es, el de la oxihemoglobina caracterizado por sus dos bandas, y el de la oxihemoglobina reducida caracterizado por una sola banda que aparece entre las otras -- dos al desaparecer estas, permite afirmar con certeza que se trata de sangre. En cambio, la comprobación del espectro de la hemoglobina normal, no es suficiente para asegurar la presencia de sangre, ya que algunas materias colorantes pueden darlo.

En algunos casos en que se pueda disolver la mancha sospechosa, conviene rasparla y recoger el polvillo en un porta-objetos, -- añadiendo una gota de una solución de potasa cáustica al 30 por ciento y cubriendo la preparación con un cubre-objetos. Entonces se calienta hasta que adquiere un tinte rojo grosella y se obtiene el espectro del hemocromógeno en dos o tres minutos, caracterizado por una banda estrecha y muy visible a la derecha de D y otra más clara y tardía en su aparición, un poco a la derecha de E.

Florence aconseja no calentar la preparación dejando la hemoglobina en presencia de la potasa durante media hora, pudiendo enton-

ces observarse el espectro del hemocromógano, con la ventaja de que no se alteran por la calefacción los elementos figurados de la sangre, por lo que se puede reconstituirlos y añadir esta prueba a la del exámen espectral.

Si el raspado de la mancha se trata con ácido sulfúrico en lugar de la potasa, se obtiene enseguida el espectro de la hemotoporfirina, que se caracteriza por una raya muy marcada y ancha, situada entre D y E, y una segunda raya más estrecha, y menos visible, situada entre C y D.

Pickering aconseja poner sobre un portaobjetos unas cuantas partículas de sangre seca, añadir una gota de ácido sulfúrico concentrado, cubrir la preparación con un cubreobjetos, y oprimiendo y frotando el cubre con el porta-objetos facilitar la solución de las partículas de sangre y que la preparación quede lista para el exámen espectroscópico. Partículas de madera, tela, u otros materiales orgánicos deberán quitarse, pues se ennegrecen con el ácido y perjudican la preparación.

Conviene recordar que la oxihemoglobina resulta de la unión de un núcleo ferruginoso, la hematina, con una sustancia albuminoidea, la globina. La potasa disocia la oxihemoglobina, liberando la hematina, que no es más que el producto de oxidación del hemocromóge-

no, del mismo modo que la oxihemoglobina es la hemoglobina oxigenada:

Oxihemoglobina = Hematina + Globina

Hemoglobina = Hemocromógeno + Globina.

METODO DE PIERRE MEDINGER. -

Verde leucomalaquita	1 g
Acido acético glacial	100 ml.
Agua destilada	150 ml.

El reactivo se conserva indefinidamente, en frasco obscuro de tapón esmerilado y fuera de la luz solar.

Antes de usar el reactivo, se ensaya con una mancha de -- sangre antigua para lo cual se mezclan 8 ml. de reactivo y 2 ml. de -- agua oxigenada al 1 por 100 (o bien 10 gotas al 3 por 100) Se colocan -- unos fragmentos de la mancha antigua de sangre sobre un papel filtro, se embebe de reactivo y en menos de 10 segundos se obtiene una mancha verde que al cabo de un minuto escaso, adquiere color verde-azulado oscuro.

Esta comprobación es necesaria, sobre todo por lo que respecta al agua oxigenada que debe ser fresca y de la cual nunca se puede estar

seguro. Ya comprobado el reactivo, se raspa sobre un papel filtro, - con ayuda de una aguja, un poco de la sustancia sospechosa, agregando encima de estos fragmentos, una gota del reactivo. Si se trata de sangre aparecerá una mancha verde como ya se dijo.

Para manchas muy pequeñas, se utiliza una varilla de cristal estirada en forma de hilo, con la cual se toca la mancha y después se limpia en el papel filtro vertiendo en seguida sobre él, la gota del reactivo.

La reacción de Médinger, es una de las más seguras y mejores según afirma Locard, y tiene la ventaja de que es negativa con todos los líquidos orgánicos, excepto la sangre, y así mismo con todos los productos químicos ensayados.

#### METODO DE LA BUSQUEDA DE GLOBULOS. -

Este método aporta siempre una prueba de certeza, en todos aquellos casos en que sea posible emplearlos.

Cuando la mancha de sangre a analizar es muy reciente, el exámen microscopico revela los elementos histológicos de la sangre, y en particular, los glóbulos rojos con su aspecto característico ya descrito en el capítulo II al referirnos a la composición de la sangre. -

Para el exámen al microscopio de la sangre seca, se toman dos pequeños fragmentos de ella colocándolos separadamente en dos porta-objetos y añadiendo a cada uno de ellos, una gota de solución salina fisiológica, al 0.9 por ciento. Se cubren las preparaciones con una campana para evitar la evaporación y se dejan una o dos -- horas en reposo. Al cabo de éste tiempo se examina una de ellas, - como una preparación húmeda. Se cubre con un cubre-objetos y se observan los glóbulos al microscopio, con objetivo seco débil. Si los glóbulos son de mamíferos, aparecerán como discos característicos, sin núcleo. Los de aves, pescados y reptiles son alargados ovoides y nucleados.

La otra preparación se extiende con uniformidad sobre el -- porta-objetos y se deja secar. Luego se fija con alcohol metílico absoluto durante 3 minutos y se tiñe con solución acuosa de eosina al 1.5 por 100, durante uno o tres minutos. Los glóbulos aparecerán teñidos con la eosina, y su núcleo con el azul de metileno.

En sangre fresca, la coloración por el método de Giemsa, da buenos resultados en la práctica. Sobre un frotis, no fijado, se vierten de 5 a 10 gotas del colorante, se cubre la preparación para evitar la evaporación y se deja en reposo 30 segundos. Luego se añade igual número de gotas de agua destilada neutralizada, se agita para que la -

mezcla sea perfecta y se deja reaccionar por lo menos media hora, lavando después con agua destilada y secando la preparación.

También puede hacerse un fijado previo del frotis, y luego se inclina la preparación para que escurra y se sumerge, sin secarla, en la siguiente solución:

Colorante de Giemsa	1 ml.
Agua destilada	20 ml.

Se deja que actúe el colorante durante 15 o 20 minutos, se lava y se seca.

Las preparaciones así coloreadas, se prestan a una magnífica observación al microscopio, tanto por lo que respecta al exámen hemotológico como al parasitológico, el cual puede tener importancia en algunos casos, para la identificación individual de la sangre humana.

Cuando la mancha de sangre a analizar es antigua, ha estado expuesta a la acción de los agentes atmosféricos, y ha sufrido procesos de putrefacción, el exámen directo al microscopio no es suficiente. Es necesario intentar primero, la regeneración de los glóbulos, lo que algunas veces no se logra, debido a los avanzados procesos de descomposición que la sangre ha experimentado.

El procedimiento para regenerar los glóbulos, consiste en colocar sobre un vidrio de reloj, pequeñas partículas de la mancha problema, obtenida por raspado, y agregar un líquido regenerativo - que tienda a hidratar los elementos histológicos, arrugados por la desecación, disociándolos unos de otros para proceder al exámen -- microscópico.

Uno de estos líquidos, conocido como líquido de Virchow, - es una solución de potasa cáustica al 30%. También se emplea el líquido de Vibert, que es una solución formada de:

Agua	100 ml.
Cloruro sódico	2.0 g.
Bicloruro de mercurio	0.50 g.

El líquido regenerador, se deja en contacto con los residuos de la mancha a analizar, durante un tiempo no muy largo, según la antigüedad de ésta. Con el líquido de Virchow es posible obtener por lo general en una hora, una regeneración globular suficiente, aunque en ciertos casos debe prolongarse. El exámen al microscopio, efectuada a intervalos, indicará cuando la imaceración esté terminada. Para ello, se pone un poco de líquido en un porta-objetos y se le da una -- serie de movimientos laterales tendientes a aislar los glóbulos del mag

ma que los aglutina. Se observa entonces al microscopio y se ve si los hematíes han recobrado su forma característica, o si aún conservan la forma almacenada, parecida a una rueda dentada, que presentan cuando es insuficiente la maceración, en cuyo caso se observa también la preparación, junto a los glóbulos blancos, unas masas amarillentas compuestas de fibrina y elementos figurados de la sangre. Entonces es necesario prolongar la maceración.

Es difícil lograr que los glóbulos rojos recuperen exactamente la forma circular que presentan en la sangre fresca, pero sin embargo y a pesar de la deformación, pueden reconocerse fácilmente al microscopio así como también los glóbulos blancos. Añadiendo ácido acético se decoloran instantaneamente los glóbulos rojos, coloreándose en cambio los glóbulos blancos, y haciéndose aparente el elemento celular.

La comprobación al microscopio de la presencia de glóbulos rojos y blancos, es una prueba definitiva y segura de que se trata de sangre.

Por otra parte, con lo modernos aparatos de epimicroscopía, puede hacerse el estudio directo de la mancha, cuando ésta se encuentra en cuerpos duros, sin necesidad de recurrir a la maceración. Los doctores Damel y Rojas de Argentina, han efectuado la

fijación y coloración de la mancha, en el sitio mismo en donde se encuentra, dejándola apta para examinarse al microscopio, como si se tratara de una preparación ordinaria. Si el cuerpo que contiene la mancha es opaco, usan un aparato de epimicroscopía, pero cuando es transparente como el papel por ejemplo, colorean la mancha y observan por transiluminación. Naturalmente que la capa de sangre no debe ser gruesa con el fin de que permita el paso de la luz.

A este método con el que se han logrado buenos resultados, aún con manchas de más de un año de antigüedad, lo han denominado "cito-diagnóstico in situ".

### CONSERVACION DE LA EVIDENCIA FISICA. -

La preservación de la evidencia física debe estar presente -- en todo tiempo en la mente de los oficiales investigadores. Debe hacerse un registro completo de la escena del crimen al mismo tiempo, nada de lo que pueda tener valor como evidencia debe ser pasado por alto. Es imperativo que la ropa de la víctima se obtenga antes de que se lave o se tire. El hospital o el depósito de cadáveres no debe permitir que se destruya la ropa, a menos que se avise lo contrario.

El valor de un número de pruebas se pierde además por cauu

sa de la oficina de investigaciones porque han extraviado la ropa de la víctima o del sospechoso, o descuidadamente permiten que las fibras de las prendas se intercambien al envolver las prendas para el envío al laboratorio, cada prenda deberá envolverse separadamente sellándola, se marcará además con las iniciales del investigador, además - de todos los datos relacionados con la prenda, nunca deberán envolverse las prendas en la misma mesa porque lleva el peligro de contaminar la ropa con fibras extrañas.

Para el caso de manchas de sangre, al localizarlas se procederá a recoger los objetos que las posean y remitirlas al laboratorio. En caso de encontrarse en sitios como paredes, suelo, cajas -- fuertes, etc. se hará un raspado con una hojilla o navaja bien limpia y el polvillo recogerlo en un sobre o tubo de ensayo, cualquiera -- que sea el modo de empaquetarlas deberá de ir perfectamente identificado, anotando la descripción y procedencia de la mancha, tratando siempre de que éstas pruebas no se alteren o contaminen para el -- análisis posterior.

## CAPITULO VII.

SELECCION DE LOS METODOS ANALITICOS MAS UTILES EN QUIMICA  
LEGAL.

Para el exámen valorativo y selectivo de los diferentes métodos y técnicas químico-analíticas empleadas para la determinación de la -- sangre, descritas en el capítulo anterior, algunas de las cuales a pesar de ser clásicas resultan hoy en día imprácticas o poco concluyentes, - se han tomado de acuerdo con lo que se ha investigado en este campo, las que aúnan a una mayor seguridad en los resultados, una mayor - facilidad de desarrollo y en consecuencia mayor rapidez operatoria, -- punto importante cuando el químico legista tiene que dictaminar en el menor tiempo posible ante la autoridad judicial, como ocurre frecuentemente.

Los resultados obtenidos deben confirmarse siempre que sea posible, y cuando el químico, bien por estar ejerciendo en un medio rural alejado de la capital, o por no tener de momento determinadas sustancias o material de laboratorio, se ve imposibilitado de practicar reacciones de certeza, deberá agrupar los resultados obtenidos con -- diferentes reacciones de orientación y de probabilidad, para lograr más seguridad y un mayor grado de evidencia.

## SELECCION DE LOS METODOS ANALITICOS ESTUDIADOS. -

### REACCIONES DE ORIENTACION.

Usese la reacción de Van Deen, pero solamente para selección, cuando hay gran número de manchas a examinar. Si la reacción resulta negativa, su valor es concluyente. De resultar positiva, debe confirmarse el resultado con otras reacciones.

Cuando se necesite dejar la mancha inalterada, o cuando esté sobre telas de color negro o azul, úsese esta reacción con el método de Taylor.

En las manchas sobre yeso, úsese con la modificación de Florence.

### REACCIONES DE PROBABILIDAD.

Prefiérase la reacción de Adler por la práctica, y la reacción de Meyer por su sensibilidad y seguridad. La primera no es útil en presencia de herrumbre, oxidadas, arena, piedra pómez, etc., en cuyo caso si es útil la segunda. Cuando las dos reacciones son positivas, la seguridad es absoluta.

Las reacciones de probabilidad deben confirmarse, siempre que sea posible, con una reacción de certeza.

### REACCIONES DE CERTEZA.

Por su sensibilidad y seguridad, elijase la reacción de Lechar-Marzo o la de Pierre Mendinger.

La reacción de Tiechmann, de ser positiva, es muy segura, - pero de ser negativa, puede ser debido a la falta de práctica del operador, por lo que debe repetirse y si vuelve a resultar negativa, se confirmará el resultado con otra reacción distinta.

Cuando la mancha de sangre es reciente, debe ensayarse el método de la búsqueda de glóbulos al microscopio.

El método espectoscópico, dada su gran sensibilidad y seguridad, se empleará siempre que sea posible, para confirmar los resultados obtenidos.

## C A P I T U L O V I I I .

### PROBLEMAS QUIMICO LEGALES EN RELACION CON LAS MANCHAS DE SANGRE.

#### DIFERENCIACION ENTRE LA SANGRE HUMANA Y LA ANIMAL. -

El hecho de haberse comprobado, por alguno de los métodos analíticos descritos en el capítulo anterior, que la mancha sometida a estudio es de sangre, no basta en muchos casos para el esclarecimiento de los hechos en el curso de una investigación criminal y frecuentemente se le pide al Químico Legista que precise acerca de que si la mancha es de origen humano o animal.

Algunas veces el delincuente, tratando de escapar a la acción de la Justicia, declara que la sangre encontrada en el arma que le recogieron, proviene de un animal doméstico que con ella sacrificó tiempo atrás, por lo que entonces es necesario establecer si dicha sangre es o no humana, y aún de ser posible su antigüedad.

#### EXAMEN Y MEDICION DE LOS GLOBULOS ROJOS. -

Como primera medida y sobre todo tratándose de sangre fresca

ca, debe ensayarse la búsqueda y medición de los glóbulos al microscopio.

Ya hemos visto que en los pájaros, reptiles, batracios y peces, los glóbulos son alargados, ovales y nucleados. También en el grupo de los camélidos (camello, dromedario, llama, alpaca, vicuña), son elípticos pero sin núcleo.

Por lo tanto, cuando el problema que se nos plantea es concreto, y se limita a establecer si la sangre encontrada en el arma es humana o corresponde a un pájaro por ejemplo, el hallazgo y el estudio de la forma y de los núcleos de los glóbulos, permitirá resolverlo en forma rápida y segura, sin tener que recurrir a técnicas más complicadas. Sin embargo, si los glóbulos están deformados, como cuando se trata de sangre muy antigua o que ha sufrido procesos de putrefacción, el resultado es incierto, aunque siempre debe intentarse la regeneración de los glóbulos, por alguno de los procedimientos ya -- descritos en el capítulo VII.

Cuando se trata de diferenciar la sangre humana de la de otro mamífero, y el examen al microscopio ha puesto de manifiesto los glóbulos en buen estado, puede intentarse la medición de ellos, adaptando al microscopio un micrómetro objetivo dividido al 1/100 de milímetro y un micrómetro ocular, utilizando el mayor aumento que se posea.

Todos los mamíferos tienen los glóbulos redondos, pero los diámetros varían, por lo que puede hacerse el diagnóstico del género, efectuando numerosas mediciones estableciendo promedios y comparándolos con los siguientes valores:

Hombre	de 6.9 a 7.7 micras
Perro	de 6.6 a 7.3 "
Conejo	de 6.0 a 6.9 "
Gato	de 5.8 a 6.5 "
Caballo	de 5.5 a 5.7 "
Buey	de 5.6 a 5.7 "
Carnero	de 4.5 a 5.0 "
Cerdo	de 6.0 a 6.5 "
Cabra	de 4.0 a 4.6 "

Observando el micrómetro objetivo se calcula, graduando el tubo del microscopio hasta lograr la superposición de las divisiones de los micrómetros, el número de divisiones del micrómetro ocular, necesarias para cubrir 1/100 de milímetro de las divisiones del ocular. Entonces se reemplaza el micrómetro objetivo por una preparación de la sangre problema, hecha con alguna de las técnicas ya mencionadas que ponen de manifiesto los glóbulos, y se busca el número

de divisiones del micrómetro ocular necesarias para cubrir totalmente un glóbulo rojo regenerado.

Actualmente, este método de medición de los glóbulos es -- poco empleado, pues aparte de la dificultad para lograr una regeneración perfecta de los glóbulos rojos, y la de hacer la medición precisa de ellos con el micrómetro, hay que efectuar numerosas mediciones para sacar promedios, y en consecuencia solamente cuando los resultados obtenidos en las mediciones de los glóbulos de la sangre problema y de la sangre con que se compara, en valores bastante separados entre sí, se podrá establecer su diferenciación; pero cuando estos valores sean muy próximos o poco constantes por el estado de los glóbulos, las conclusiones tendrán solamente valor de probabilidad y deben confirmarse utilizando métodos biológicos.

Otro método de investigación que puede tener valor de orientación, consiste en teñir la mancha seca de sangre con la fucsina fenicada, haciendo la preparación de la misma manera que se procede para el bacilo de Koch, excepto que el líquido decolorante es una solución ácida sin alcohol. Si ésta técnica muestra el bacilo esmegma, será -- una fuerte prueba para determinar que la sangre problema es de origen animal.

MÉTODOS DE LOS SUEROS PRECIPITANTES. REACCIÓN DE UHLENHUTH. -

Los experimentos de Tchistovitsch en 1901, seguidos por los de Bordet, Nuttal y Uhlenhuth, culminaron al proponer el empleo en Medicina Legal de los sueros precipitantes, los cuales han sido de gran utilidad para diferenciar la sangre humana de la animal, mediante la reacción a la que los investigadores posteriores le dieron su nombre, por lo que es conocida como reacción de Uhlenhuth.

El método se fundamenta en el hecho de que se inyecta a un animal A, determinadas dosis y a ciertos intervalos, suero de otro animal B de especie diferente, el suero del primero extraído después de cierto tiempo, produce un precipitado voluminoso de naturaleza albuminoidea, en el suero de todo animal de la especie B y no en el de otra especie distinta. Es decir, el suero B actúa como antígeno al ser inyectado en A, provocando en la sangre de A la formación de anticuerpos, precisamente en la fracción del suero que contiene las globulinas, apareciendo así en el suero de A, precipitinas séricas que sólo producirán el fenómeno de precipitación con el suero de un animal de la especie B, pero no con el suero de otro animal de especie distinta.

La reacción de Uhlenhuth, debe obtenerse primeramente el anti-suero, y además preparar adecuadamente la mancha o material - a examinar. Las técnicas seguidas para la obtención de antisuero por los distintos investigadores: Nattall, Hektoen, Uhlenhuth, Kolmer, - etc. varían respecto a la dosis del antígeno, los intervalos de ellas, y aún la forma de administrarlas, pero siguiendo cuidadosamente cualquiera de ellos, puede obtenerse el antisuero adecuado para efectuar la reacción.

La reacción es de gran sensibilidad y aún a altas diluciones se obtiene inmediatamente un fino precipitado, que al cabo de un tiempo variable, se vuelve coposo y se deposita en el fondo del tubo.

Una técnica aconsejable es la siguiente:

Preparación del antisuero: Se seleccionan previamente varios conejos sanos, adultos; por lo menos seis, porque suelen sucumbir algunos durante la prueba.

Se hace una dilución al 1:10 de suero humano estéril, agregando 5 ml. de suero o plasma humano (asépticamente obtenido), y -- 45 ml, de solución salina fisiológica y mezclando bien.

Primera Semana: Se aplican seis dosis inyectando a cada -- uno diariamente, de lunes a sábado, 2 ml. de dilución al 1:10 de sue-

ro humano estéril o plasma, en la vena marginal de la oreja, y se marca a cada conejo para llevar su record.

Segunda semana: Descanso.

Tercera semana: Se aplican dosis inyectando diariamente a cada conejo, de lunes a sábado, 2 ml. de la dilución 1:10 de suero humano estéril o plasma, siendo la primera inyección intramuscular y las otras cinco intravenosas.

Sexta semana: Descanso.

Pasada ésta semana, se extrae a cada conejo una pequeña cantidad de sangre, probando cada una de éstas muestras para ver si manifiestan el factor precipitante antihumano, rechazando los conejos cuyo suero no presente reacción con suero humano diluido al 1:100 como mínimo, y seleccionando en cambio el conejo cuyo suero haya -- mostrado un alto poder reaccionante.

Se extrae entonces la sangre de éste conejo por disección de la arteria carótida y se coloca, siempre en condiciones de esterilidad - en tubos de centrífuga, los cuales se dejan en posición inclinada hasta que la sangre coagule, los coágulos se desprenden golpeando los -- tubos contra la palma de la mano, y se procede a una centrifugación - durante treinta minutos, a velocidad elevada, para separar el suero.

Se decanta el suero sobrenadante, y se recoge esterilmente en tubos que se tapan con corchos estériles. Se inactivan a  $56^{\circ}\text{C}.$ , y se coloca el suero en ampolletas estériles de 1 ml. que se cierran luego a la llama y se conservan en refrigeración, rotulándolas debidamente con los datos necesarios.

Material a examinar: Ya obtenido el antisuero, se procede a macerar la mancha de sangre a analizar, utilizando para ello solución salina, mantenida en refrigeración todo el tiempo que dure la maceración para evitar enturbiamientos y desarrollo de bacterias. El tiempo de maceración será más o menos prolongado según la antigüedad de la mancha y si ésta ha sufrido temperaturas elevadas, por lo general setenta y dos horas como máximo son suficientes. Si el extracto obtenido tiene sedimentos o está turbio, debe centrifugarse, recogiendo el líquido sobrenadante claro.

Igualmente se procede a hacer un extracto en una porción libre de la mancha, que servirá de control, y nos dará la seguridad en el caso de que la reacción sea positiva, de que la positividad se debe precisamente a la mancha a investigar, y no a la tela o material en que ella se encuentra. Esto, sumado a otros controles de que hablaremos, nos permitirá llegar a la evidencia de que la mancha problema es de sangre humana.

Técnica de la prueba: Se toman 5 tubos de vidrio, de los llamados de Khan, perfectamente limpios, pues si han tenido anteriormente contacto con la sangre humana podría ser causa de error dada la alta sensibilidad de ésta prueba, en cada uno de los tubos se pone una pequeña cantidad de la precipitina del suero antihumano, la cantidad debe ser igual en todos los tubos.

Se numeran los tubos del 1 al 5 y se les va añadiendo igual cantidad de las siguientes sustancias, por su orden.

Primer tubo: Extracto de la mancha problema.

Segundo Tubo: Extracto de la porción libre de la mancha.

Tercer Tubo: Suero humano de concentración conocida.

Cuarto Tubo: Suero de conejo.

Quinto Tubo: Solución salina de la utilizada para las extracciones.

Se dejan los tubos en posición vertical, sin moverlos. Al cabo de cinco minutos se hace una primera lectura, y una segunda y última a las 24 horas.

Si la mancha es de sangre humana, el primer tubo mostrará al cabo de cinco minutos, una línea blanca en el plano de separación de los líquidos, y se irá formando un precipitado que a las 24 horas se encontrará en el fondo del tubo.

El segundo tubo, el cuarto y el quinto, deberán dar reacción negativa, mientras que el tercer tubo que contiene suero humano conocido, debe naturalmente dar reacción positiva como el primer tubo.

Si la mancha problema no es de sangre humana, en todos los tubos la reacción será negativa, excepto el tercero.

Cuando se obtiene un resultado positivo con la reacción de Uhlenhuth, y los tubos de control confirman el resultado según queda ya expuesto, podremos afirmar con seguridad que la mancha problema es de sangre humana. Sin embargo, el antisuero no es rigurosamente específico, pues el humano produce precipitación con la sangre de ciertos monos, así como el de caballo la produce. No obstante, en circunstancias normales en las que prácticamente puede excluirse la presencia de sangre de mono en la sangre problema, la prueba resulta de gran especificidad.

Es conveniente insistir, respecto a que ésta reacción debe haber estado precedida de las reacciones generales para establecer si la mancha es o no de sangre, ya que la formación de precipitinas en la reacción de Uhlenhuth, no caracteriza la presencia de sangre, sino la de las albúminas de la sangre, y sobre todo de las globulinas. O sea que los líquidos orgánicos como el ascítico, el pleurítico, el mucus nasal y hasta la orina albuminosa, (pero no la leche de mujer)

puede dar positiva la reacción, lo que indica únicamente la procedencia humana de la sustancia examinada.

Por lo tanto, sólo cuando hemos caracterizado previamente la presencia de hemoglobina, confirmando con los métodos de certeza ya expuestos, que la mancha analizada es de sangre, es cuando la positividad de la reacción de Uhlenhuth nos servirá para establecer su origen humano.

El hecho de haber estado la sangre examinada expuesta a temperaturas hasta de  $-10^{\circ}\text{C.}$ , - nos afecta la intensidad de la reacción, la cual se produce también con la sangre de los intoxicados y de personas muertas por enfermedades infecciosas, según afirma Balthazard. Además, ésta reacción conserva su utilidad cuando nos encontramos en presencia de una mezcla de sangre humana y animal, ya que podemos diferenciarlas al encontrar, en pruebas en serie, los precipitados característicos con cada uno de los antisueros correspondientes.

Cuando la prueba se practique sobre prendas, objetos o restos que han sido enterrados junto con cal, y la sangre ha tenido contacto prolongado con ella, pierde su propiedad de precipitar el antisuero y la reacción resulta negativa. Esta posibilidad debe tomarse en cuenta en determinados casos.

## METODO DE LA FIJACION DE COMPLEMENTO.

### REACCION DE BORDET Y GENGOU. -

El método se basa en que cuando se inyecta a un cobayo -- glóbulos rojos de carnero por ejemplo, esos glóbulos son devorados por los fagocitos, y la sangre del cobayo adquiere la facultad de hemolizar los glóbulos rojos de carnero "in vitro". Esto se debe a la formación de dos sustancias en la sangre del animal sensibilizado: la llamada sensibilizadora o amboceptor, que sólo actúa sobre los glóbulos de la especie con que se hizo la sensibilización ( el carnero en éste caso), y otra llamada alexina o complemento que es la misma, no importando la especie de que se utilizaron los glóbulos.

La sensibilizadora permite a la alexina fijarse en un antígeno, o sea sobre la hematinas extrañas. Por lo tanto, gracias a la sensibilizadora, el antígeno puede fijar la alexina, o sea desviar el complemento.

La reacción se efectúa así: Si A es el antígeno y B la sensibilizadora, y si A y B se ponen en presencia de alexina en cantidad - conveniente, ésta debido a B se fijará en A y no habrá ya alexina libre. Si a ésta mezcla se agregan glóbulos de cabra y un suero he--

molítico por falta de alexina libre y la reacción es positiva. Pero si A no corresponde a la sensibilizadora B, la alexina añadida no quedará fija en A sino que seguirá libre y podrá fijarse a los glóbulos de cabra, debido a la sensibilizadora correspondiente a ellos. Entonces habrá -- hemólisis y la reacción será negativa.

La técnica a seguir, según aconseja LOCARD, es la siguiente:

Reactivos: Teniendo como antígeno la mancha problema disuelta en suero fisiológico, se necesita:

a). - El antisuero o sensibilizadora, que es suero de conejo - recogido siete días después de la última inyección de sangre humana - de una serie de cuatro, y calentando a  $56^{\circ}\text{C}$ . durante media hora para destruir la alexina.

b). - La alexina, que será suero normal de cobayo.

c). - Hematinas de carnero, obtenidas desfibrinando la sangre, centrifugando, lavando con suero fisiológico y diluyendo al 5 por ciento.

d). - La sensibilizadora hemifítica obtenida administrando a los conejos cuatro inyecciones de glóbulos de carnero, recogiendo el suero y calentando a  $56^{\circ}\text{C}$ . durante media hora para inactivarlo.

Titulación: Para establecer el poder hemolítico del suero, se ponen en una serie de tubos, dosis iguales de glóbulos de carnero, cantidad igual de alexina, y cantidades decrecientes de suero hemolítico, se iguala en todos el volumen a 3 ml. añadiendo suero fisiológico, y se meten los tubos a la estufa a 37° C. durante una hora.

Se compara entonces a partir de qué dosis de suero hemolítico es completa la hemólisis, y la dosis hemolizante mínima nos determina el título.

Luego determinamos la actividad aléxica, poniendo en otra serie de tubos, dosis iguales de glóbulos de carnero, una cantidad de suero hemolítico (igual), y cantidades decrecientes de alexina. Se completa el volumen de todos los tubos a 3 ml. adicionando suero fisiológico, se meten a estufa a 37° C. durante una hora y se toma como título la alexina, la cantidad suficiente para producir la hemólisis completa en quince minutos.

El antisuero también se titula poniendo en otra serie de tubos, dosis iguales de antisuero y cantidades iguales de alexina y de antígeno, o sea de sangre normal muy diluida. Se completa el volumen de todos los tubos hasta 3 ml. añadiéndoles suero fisiológico y se meten durante dos horas a la estufa a 37° C. Se agrega 1 ml. de glóbulos de carnero al 5 por 100 y 0.1 ml. de suero hemolítico al 1 por --

100; se meten a la estufa y después se observan los resultados.

Si la sensibilizadora ha fijado toda la alexina en el antígeno humano, no debe producirse ninguna hemólisis, y anotamos la cantidad de suero suficiente para impedir la hemólisis.

Práctica de la reacción: Hechas las titulaciones anteriores, ponemos en una serie de tubos 0.1 ml. de la alexina titulada, más 3 ml. de antisuero con dosis decrecientes de antígeno, es decir de la mancha a analizar disuelta en suero fisiológico al 1 por 100, agitando, y poniendo los tubos en la estufa a 37°C. durante dos horas. Se agrega 0.1 ml. de suero hemolítico al 1 por 100 y 1 ml. de suero fisiológico, agitando de nuevo y poniendo en la estufa los tubos durante otras dos horas, -- en éste tiempo se ve si hay o no hemólisis.

Si no hay hemólisis, la mancha analizada es de sangre humana.

La reacción de Bordet y Gengou, de gran valor y seguridad, -- tiene también como error la sangre de mono, y el proceso operatorio es largo y difícil, requiriendo un laboratorio adecuadamente equipado y -- operadores hábiles y especializados para evitar errores de técnica que -- le quiten valor.

### METODO ANAFILACTICO.

Este método, de gran seguridad y mucho más sensible que el precedente, se basa en los fenómenos anafilácticos, especificados por Richet al establecer que una sustancia insuficiente para matar o enfermar a un animal normal, determina accidentes fulminantes y mortales en un animal al cual un tiempo antes se le ha inyectado esa misma sustancia.

Por lo tanto, si se sensibiliza a un cobayo inyectándole el producto de dilución de una mancha de sangre problema, el animal muere rápidamente si en veinte días se le aplica una inyección de sangre humana, siempre y cuando que la primera sangre problema haya sido humana también.

El proceso tiene tres fases:

1. - De sensibilización; que se logra inyectando al animal la dilución de la mancha de sangre en estudio.
2. - De incubación, o periodo preanafiláctico, que dura unos veinte días.
3. - La inyección desencadenante hace que se presenten los fenómenos anafilácticos, al inyectar sangre humana, si la mancha

problema era también de sangre humana.

La técnica a seguir, según aconseja Martin, consiste en disolver la mancha o costra de sangre, en una pequeña cantidad de solución salina fisiológica, a la que se añaden unas gotas de solución diluida de sosa, hasta obtener una ligera alcalinidad. Esta solución puede calentarse hasta 100° C. al baño maría, con el fin de que los microorganismos presentes desaparezcan.

Obtenida la solución, se sensibilizan con ella varios cobayos, por inyección intracardiaca o intracraneal, a través del agujero óptico, aplicando a cada uno de ellos 1 ml. de la solución.

A las dos o tres semanas, se toma uno de los cobayos sensibilizados y se le inyecta, por la misma vía, un ml. de sangre humana. Si la mancha problema es de sangre humana, ésta segunda inyección mata al cobayo.

Si el resultado fuese negativo, puede investigarse el origen animal de la sangre problema, inyectando al resto de los cobayos sensibilizados, sangre de perro, de conejo, de caballo, etc. hasta encontrar el que presente fenómenos de anafilaxia.

Este método muy seguro, sólo es inaplicable a la sangre de mono. Además requiere instrumental adecuado, y tiene el inconvenien

te de que se necesitan dejar pasar dos o tres semanas para poder apreciar los resultados, lo que demora el curso de una investigación criminal, en la que las pruebas evidenciales deben aportarse en el menor tiempo posible.

Sin embargo, en los laboratorios en que sean frecuentes éstas determinaciones, puede reducirse el tiempo, teniendo de antemano conejos sensibilizados con sangre humana, y haciendo la inyección desencadenante con el producto de dilución de la mancha problema cuando el caso se presenta, siempre que haya transcurrido el periodo de incubación.

NOTA: En los métodos biológicos estudiados para diferenciar la sangre humana de la sangre animal, (método los sueros precipitantes, método de la fijación de complemento y método anafiláctico), hemos señalado que puede tener como causa de error, la sangre de mono.

En muchos países y en circunstancias normales, ésta posibilidad prácticamente se descarta, pues la presencia de antropoides es cada vez más rara en las grandes urbes; sin embargo y por si en un caso dado fuera necesario establecer la diferenciación entre la sangre humana y la de mono, o de suprimir ésta remota causa de error, hay que señalar que la prueba puede hacerse totalmente específica, obteniendo precipitinas antihumanas por inyecciones de sangre humana

en especies de primates, con lo que no se producen anticuerpos inespecíficos en los animales inmunizados. Los antisueros de primates -- resultan específicos en el caso de sueros humanos, pero no contra -- sueros de mamíferos.

Por lo tanto, las seguridades que nos pueden dar los métodos biológicos para establecer si la sangre es humana o animal, por el método de los sueros precipitantes, son completas y de un valor químico legal absoluto.

#### IDENTIFICACION INDIVIDUAL DE LA SANGRE HUMANA. -

Comprobado ya en el laboratorio, que las manchas encontradas en una arma homicida por ejemplo, son de sangre, y además que ésta sangre es humana, el acusado suele dar como explicación que con esa arma se produjo él accidentalmente una herida tiempo atrás, llegando hasta mostrar como confirmación alguna cicatriz en su cuerpo.

En este caso los exámenes de laboratorio deben continuarse y hacer el estudio comparativo entre la sangre del acusado y la encontrada en el arma, y aún de ser posible, investigar la probable antigüedad de la cicatriz que debe establecerse previamente mediante el dictamen médico legal, así como si la lesión pudo haberse producido con -

un arma de las características sometidas al exámen.

Para la investigación respecto a si una mancha de sangre fresca corresponde a una persona determinada, es muy útil principalmente con fines de exclusión, la determinación del grupo sanguíneo, tanto de la sangre problema como de la persona a quien se atribuye.

#### DETERMINACION DE LOS GRUPOS SANGUINEOS. -

Hay cuatro grupos sanguíneos clásicos, descubiertos en 1900 que según la clasificación de Landsteiner, la más común de todas e internacionalmente adoptada, se denominan como sigue: AB, A, B, y O.

El hecho de que dos muestras de sangre sean del mismo grupo, siendo éstos nada más cuatro, no es suficiente para probar que proceden de una misma persona; en cambio si dos muestras de sangre corresponden a grupos diferentes, sí puede afirmarse categóricamente que, proceden de personas distintas, lo que es de gran importancia, para la eliminación de sospechosos en el curso de un proceso criminal.

Estos grupos son inmutables y como ha dicho Lattes, el te-

ner un determinado grupo sanguíneo es un carácter fijo en cada ser humano, y no es alterado o cambiado por el tiempo o las enfermedades.

Los porcentajes de la frecuencia con que los distintos grupos presentan en la sangre humana, coleccionados por Smith, sobre los resultados obtenidos por Karsner, Decastello y Sturli, Hektoen, Ottenberg, y Moss, sumados a los de Von Dungem y Hirszfeld, sobre 5.965 individuos, fueron los siguientes:

Grupo AB	5.78%
Grupo B	11.29%
Grupo A	40.29%
Grupo O	42.56%

Estos resultados son semejantes a los obtenidos por Lynch y Col, y aunque los porcentajes varían de una raza a otra, nos muestran que los grupos AB y B se encuentran en todas, en mucha menor proporción que los grupos A y O, lo que puede tener cierto valor en la identificación individual de la sangre humana.

Los fenómenos de aglutinación y hemólisis que se observan en la sangre, se deben a la presencia en el suero de dos aglutininas (a y b) y a la existencia de los glóbulos rojos de dos aglutinógenos (A y B),

y como no pueden coexistir en la misma sangre las aglutininas y los aglutinógenos correspondientes, cuando en los glóbulos están presentes los dos aglutinógenos, el suero estará libre de las dos aglutininas y la sangre pertenecerá al grupo AB; pero si el suero no contiene las dos aglutininas, los glóbulos carecerán de los dos aglutinógenos, y la sangre corresponderá al grupo O. Si los glóbulos tienen aglutinógeno A, el suero tendrá aglutinina b, y la sangre será del grupo A; pero si los glóbulos poseen aglutinógeno B, el suero tendrá aglutinina a, y la sangre corresponderá al grupo B.

Por lo que los fenómenos de aglutinación que presente una sangre en estudio, permitirán clasificarla por ser más sencillas, que deben haberse precedido de las pruebas biológicas necesarias para precisar que la sangre problema es sangre humana.

Establecido esto, procederemos a determinar el grupo a que pertenece la sangre según la de Landsteiner, para lo cual a 1 o 2 ml. de solución de cloruro sódico al 0.9%, se añaden 2 a 4 gotas de la sangre problema. Por separado, en un pequeño tubo de ensayo, se pone una gota de suero de una sangre conocida A, y otro tubo una gota de suero de otra sangre conocida B, agregando a cada tubo una gota de suero fisiológico y una gota de la suspensión obtenida con la sangre problema. Se agitan los tubos varias veces dejándolos luego -

en reposo a la temperatura ambiente del laboratorio durante 15 minutos, al cabo de las cuales, se toma con unas varillas de cristal una -- gota de cada uno de ellos, colocándolas separadamente en un portaobjetos, y se examinan al microscopio con objetivo seco débil, anotando cual presentó aglutinación al cabo de unos minutos, volviendo a examinar después de una hora las que resulten negativas. Para mayor seguridad de la prueba, es conveniente incluir testigos de glóbulos -- conocidos A y B.

Cuando no hay aglutinación con el suero A ni con el B, -- la sangre es del grupo O, pero si hay aglutinación en ambos, la sangre pertenece al grupo AB. Si hay aglutinación con el suero A pero no con el B, la sangre corresponde al grupo B. Si hay aglutinación con el suero B pero no con el A. la sangre pertenece al grupo A.

Los sueros empleados deben haber sido cuidadosamente -- comprobados con hematíes de varias personas de conocido grupo sanguíneo, y no debe confundirse una franca aglutinación, con falsos -- grumos o pilas de hematíes en los márgenes de la preparación.

Para la determinación de aglutininas en la sangre fresca, el procedimiento es el mismo que para los aglutinógenos, excepto que los reactivos son ahora suspensiones conocidas de glóbulos O, A y B,

y el suero es el desconocido. El suero de la sangre desconocida que se está probando, no contendrá corpúsculos, por lo que éstos deben separarse por centrifugación.

Si el suero problema aglutinó con los glóbulos conocidos -- A y B pero no con los del grupo O, se deducen las aglutininas de la siguiente forma: Si los glóbulos A fueron aglutinados, el suero -- tendrá aglutininas A, pero si los glóbulos B fueron aglutinados, el suero contendrá aglutinina B. Si ni A ni B fueron aglutinados, - el suero no contendrá aglutininas.

#### DETERMINACION DE LOS AGLUTINOGENOS Y DE LAS AGLUTININAS, EN MANCHAS ANTIGUAS DE SANGRE. -

En manchas de sangre antiguas, la destrucción de los glóbulos rojos por la hemólisis y las alteraciones causadas por la desecación, no permiten el efectuar pruebas directas de aglutinación. - La determinación es mucho más difícil en sangre seca que en sangre fresca, y se necesita mucha práctica y experiencia para poder - confiar en los resultados. La antigüedad de la mancha, su exposición a la luz directa del sol, temperaturas elevadas y otros factores, producen alteraciones en los fenómenos de aglutinación.

Cuando sea posible, deben determinarse tanto las aglutininas como los aglutinógenos, ya que una sola determinación puede no ser concluyente. Un resultado negativo en la búsqueda de las aglutininas o de los aglutinógenos, no probará la ausencia de ellos en la sangre original, ya que las alteraciones o destrucciones que ha sufrido, pudieron impedir la positividad de la reacción.

En estos casos, si al obtener un resultado positivo para la aglutinina cuando se examina frente a glóbulos conocidos B, se despreja la posibilidad de que la reacción negativa frente a los glóbulos A pueda deberse al deterioro sufrido por la aglutinina A, podríamos decir que la sangre problema era del grupo A, cuando que lo más que podemos decir, es que la sangre en estudio puede pertenecer al grupo A o al grupo O, pero no pertenece al grupo B ni al grupo AB.

Si además determinamos el aglutinógeno, podremos deducir mejor el grupo problema. Si por ejemplo encontramos el aglutinógeno A y no el B, podremos afirmar con certeza que la sangre es del grupo A, pero no de encontrar al aglutinógeno, sólo podremos establecer como ya dijimos, que la sangre puede ser del grupo A, o del grupo O.

Las aglutininas, que por cierto no están presentes en la sangre de un recién nacido sino que comienzan a desarrollarse en los pri

meros meses, son muy delicadas, y en la sangre antigua van desapareciendo progresivamente bajo la influencia de la desecación, de la de oxidación y de la putrefacción. Los aglutinógenos en cambio, son mucho más resistentes; soportan la desecación, el calentamiento y la acción de agentes químicos enérgicos, por lo que es posible encontrarlos en manchas antiguas de sangre.

Cuando las aglutininas están ya deterioradas al practicar el exámen de la sangre, tendremos que recurrir a la determinación de los aglutinógenos y llegar a conclusiones que dependerán de cada caso, y cuyo valor será sólo para eliminación. Así por ejemplo, si en un caso dado encontramos el aglutinógeno A, al examinar las manchas de sangre en ropa de un sospechoso, éste quedará excluído si la sangre de la víctima fuera del grupo B, o del grupo O, pero si la víctima fuera del -- grupo A, el resultado del laboratorio no permitiría excluir al sospechoso. Una prueba de alto valor se aportaría en cambio, si logramos demostrar la presencia de la aglutinina B.

Para la determinación de los aglutinógenos en manchas antiguas de sangre, puede utilizarse el método de Hozler que consiste en efectuar una maceración de la mancha de sangre y caracterizar en -- ella los aglutinógenos por su poder de absorción respecto a aglutininas específicas contenidas en soluciones, p reviamente dosificadas, agre--

gadas a la maceración. La disminución en la dosificación de la solución, indica la presencia en la mancha de sangre de aglutinógenos A o B, que han fijado las aglutininas A o B.

La titulación del suero A y del B, se comprueba por ensayos de aglutinación frente a hematíes A o B, a diluciones obtenidas en progresión geométrica  $1/4$ ,  $1/8$ ,  $1/16$ ,  $1/32$ ,  $1/64$ , etc. A 0.50 ml. de suero diluído, se agregan 0.50 ml. de una suspensión globular fisiológica al 2.5% y después de un momento se centrifuga durante treinta segundos. Enseguida, se deja en contacto durante 24 horas, y en refrigeración, un pequeño fragmento de la mancha, con 0.3 ml. de suero A, y otro pequeño fragmento, con 0.3 ml. de suero B. Se procede entonces a una nueva titulación del suero, y si la cantidad de aglutininas ha bajado tres grados (o sea, tres diluciones de la progresión geométrica), la aglutinina correspondiente se encuentra en la mancha. Si la sangre no absorbió nada es del grupo O.

La naturaleza del material sobre el cual se encuentra la mancha, (tela, papel, pintura, tierra, etc.), puede modificar las propiedades aglutinantes, por lo que es necesario practicar reacciones de control con dicho material para evitar errores.

Para la determinación de las aglutininas en la sangre seca,

O'Hara aconseja las dos técnicas siguientes: Cuando la sangre concentrada en un área pequeña ha formado una costra, desprenderemos una pequeña porción de ella y aplicaremos el primer método, pero si la sangre no impregnó lo suficiente al material sobre el cual se encuentra - para formar costra, entonces tendremos que hacer una extracción y - proceder al segundo método.

METODO PRIMERO. - Se toma una pequeña porción de la -- costra, sin utilizar partes gruesas porque después de la preparación no puede cubrirse adecuadamente. De 0.1 a 1.0 mg, son suficientes para la prueba, pudiendo utilizarse un escalpelo o una hoja de afeitar, para desprender las costras de superficies tales como vidrio, piedra, etc.

Para estas pruebas, las suspensiones de glóbulos conocidos - que se usen, deben ser de alta sensibilidad, y el cubreobjetos debe manipularse debidamente para no perjudicar la preparación y poder distinguir una pseudo-aglutinación, de una verdadera aglutinación. Se usarán además glóbulos del grupo O, como control frente a agregaciones -- producidas por causas no específicas.

Se toman dos pequeñísimas porciones de la costra de sangre y se colocan sobre un portaobjetos, una en cada extremo. Cerca de la costra del lado izquierdo, se ponen una o dos gotas de una suspensión

al 2% de glóbulos A y junto a la del lado derecho, igual cantidad de otra suspensión al 2% de glóbulos B. Se coloca un cubreobjetos sobre cada una de estas preparaciones, de tal forma, que el líquido se ponga en contacto con el borde de la costra, sin que queden burbujas de aire que separen la costra del líquido.

Para control, se coloca una pequeña porción de la costra en otro portaobjetos y junto a ella dos gotas o una de suspensión al 2% de glóbulos O, cubriendo la preparación en la misma forma ya indicada para las anteriores.

Después de unos minutos se examina cada una de las preparaciones al microscopio, con aumento de 50 a 100 diámetros, para ver si hay aglutinación. Si no se obtienen resultados, se repiten las observaciones con intervalos de treinta minutos, poniendo especial cuidado para distinguir la franca aglutinación de la falsa.

La aglutinación no es posible con glóbulos O, por tanto, un resultado positivo será anormal e indicará que una reacción no específica ha tenido lugar. En éste caso los resultados obtenidos con glóbulos A<sub>1</sub> o B, no pueden tomarse como base para determinar las aglutininas que estén presentes. Además hay que recordar, que en este tipo de investigación solamente los resultados positivos tienen valor, -

ya que las reacciones negativas pueden deberse al deterioro sufrido - por las aglutinas. En consecuencia, es posible que el grupo O, presente nada más una de las dos aglutininas (a o b) porque la otra se ha destruído.

Cuando encontramos presentes a las aglutininas en las manchas de la sangre problema, es posible determinar los grupos a que -- pertenecen dichas manchas.

El siguiente cuadro sinóptico nos servirá para interpretar -- los resultados siguientes:



**METODO SEGUNDO:** Este método es útil para la determinación de las aglutininas cuando no se dispone de costras de sangre. Si la mancha está sobre un objeto sólido como un pedazo de madera del mango de un martillo, hacha, etc., se remueve la sangre colocando sobre el área de la mancha, unas gotas de solución salina. Bastan algunos minutos para que la sangre se disuelva, pudiendo entonces recoger la solución con una pipeta.

Si la mancha está sobre una tela, se corta una parte de ella o toda el área si es limitada, y se coloca en tubo de ensayo agregando la menor cantidad posible de una solución salina y presionando con una varilla de vidrio a fin de acelerar la extracción y obtener un extracto de color oscuro.

El extracto obtenido se centrifuga para separarle cualquier impureza que le haya podido caer durante la manipulación.

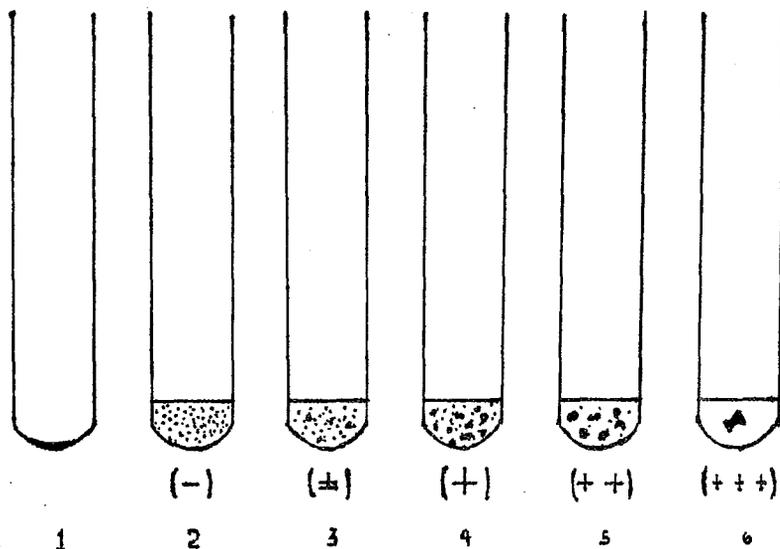
Se toman tres pequeños tubos de ensayo y en cada uno de ellos se ponen diez gotas del extracto centrifugado. Al primer tubo se le añade una gota de una suspensión de glóbulos conocidos  $A_1$ , al segundo de glóbulos B y al tercero de glóbulos O, a concentraciones que dependerán del color que tenga el extracto obtenido, y de la antigüedad de la mancha. Si el extracto es de color rojo oscuro o cereza, se em-

plea una suspensión al 2%, pero si la mancha es antigua o el extracto es de un color cereza claro o rosado, la suspensión empleada será de 0.5%.

Los tres tubos se colocan durante diez minutos o un poco más en refrigeración y después se centrifugan dos minutos por lo menos, a 1 500 ó 2000 r. p. m.

Se separa el líquido sobrenadante del primer tubo, se añade una gota de solución salina y se agita. Se procede de igual manera -- con los otros tubos. Si los glóbulos quedan suspendidos como ocurre si no hay aglutinación, la prueba es negativa, pero si forman agrupamientos y se mantienen unidos, entonces se dice que hay aglutinación.

El siguiente diagrama muestra gráficamente el aspecto que pueden presentar los tubos:



### RESULTADOS POSIBLES DESPUES DE LA CENTRIFUGACION. -

TUBO 1. - Los glóbulos están en el fondo del tubo como un -- sedimento y el líquido sobrenadante ha sido vaciado. (Pueden aparecer glóbulos en el tubo 1, después de añadir una gota de solución salina y agitar).

TUBO 2. - Los glóbulos están en suspensión y el líquido está uniformemente coloreado. Es una reacción negativa (-).

TUBO 3. - El sedimento se dispersa, pero no como cuando es negativa la reacción. Esta es una reacción débil, que puede deberse a un proceso de deterioro de la aglutinina, que aún no ha terminado en el momento de la prueba. También puede indicar una reacción no específica. Por lo tanto el resultado es dudoso ( $\pm$ ).

TUBO 4. - El sedimento se ha roto. Hay una reacción positiva de aglutinación (+).

TUBO 5. - El sedimento está ligeramente roto. Es una reacción positiva moderada de aglutinación (+).

TUBO 6. - El sedimento no se ha roto, pero flota en uno o dos grandes grumos. En una fuerte reacción positiva de aglutinación (+++).

Los resultados obtenidos en la determinación del grupo sanguíneo

aplicando las técnicas ya especificadas, si son claros y perfectamente comprobados, tienen un valor absoluto, como excluyentes, cuando las muestras de sangres comparadas corresponden a distinto grupo sanguíneo.

El hecho de que dos muestras de sangre presenten el mismo grupo, nos servirá para asegurar que ambas proceden de la misma persona, pero en determinados casos establecen una presunción que puede reforzarse por la determinación de sub-grupos, como ya veremos, y que sumada a otras, puede tener gran valor para el esclarecimiento de los hechos.

Si el aglutinógeno contenido en una mancha de sangre encontrada en las ropas del presunto homicida, no corresponde con el de su sangre y si con la del occiso, será una fuerte prueba, aunque de valor solamente presuncional, en su contra. Pero si el aglutinógeno encontrado en la mancha de sangre de la ropa del acusado, corresponde al de su propia sangre y no a la del occiso, bastará para exponerlo, salvo el caso naturalmente de que el acusado y el occiso tengan el mismo grupo sanguíneo,

Si en los servicios judiciales o policíacos de identificación, se hiciera constar en las hojas de filiación de los detenidos, principal

mente en los relacionados con delitos de sangre, el grupo sanguíneo - al que pertenecen, sería de gran ayuda en la investigación de futuros delitos, excluyendo sospechosos y evitando pérdidas de tiempo e inútiles detenciones al seguir pistas falsas.

### DETERMINACION DE LOS SUB-GRUPOS SANGUINEOS. -

Posteriores investigaciones han descubierto, además de los cuatro grupos sanguíneos clásicos, diferentes sub-grupos, tipos y subtipos, así como otros factores que se describirán más adelante, que -- permiten no solamente aumentar la exclusión de sospechosos relacionados con hechos delictivos, sino contar con mayor número de ele---mentos al tratar de establecer el origen individual de determinada mancha de sangre, y alcanzar por lo tanto mayor grado de evidencia.

El descubrimiento de los sub-grupos  $A_1$  y  $A_2$  así como  $A_1B$  y  $A_2B$  y de nuevas propiedades aglutinantes M, N, G, H, Q, etc. aumentan considerablemente las posibilidades de diferenciación.

Von Dungern y Hirszfild fueron los primeros en demostrar que, cuando un suero de grupo B era absorbido con una cierta sangre de grupo A hasta que hubiera perdido el poder de aglutinación respecto de la sangre absorbente, el suero era aún capaz de retener el poder

de aglutinar casi todas las demás sangres de grupo A y de grupo AB. - Por esta razón surgió una sub-división tanto de las sangres del grupo A como del AB.

Guthric encontró que el suero de ciertas sangres del grupo A era capaz de aglutinar los glóbulos de otras sangres pertenecientes al mismo grupo, llegando a la conclusión de que había dos sub-grupos dentro de cada uno de los grupos A y AB, como resultado de la presencia de dos fracciones de aglutinina, una de las cuales actúa sobre toda la sangre del grupo A y AB. Estos fueron clasificados en sangres del grupo A, como sub-grupos  $A_1$  y  $A_2$  y en sangres del grupo AB, -- como sub-grupos  $A_1B$  y  $A_2B$ .

Algunos investigadores estiman que el sub-grupo  $A_1$  tiene un porcentaje de frecuencia de 80% mientras que el de  $A_2$  es solamente de 20% y  $A_1$  es fuerte, mientras  $A_2$  es débil.

Hay dos maneras de explicar la naturaleza cualitativa de estos sub-grupos. Una, es que contienen la misma sustancia A y además análogos aglutinógenos diferentes ( $A_1$  y  $A_2$ ) aunque aparentemente iguales.

Para Lattes y otros, las diferencias entre los sub-grupos son debidas a una variación en la cantidad del mismo aglutinógeno, y que

para Thomsen se deben a que  $A_1$  reacciona más fuertemente que  $A_2$  -- como ya se ha indicado.

Los porcentajes encontrados en Chile por el Dr. Luis Sandoval S. al estudiar los sub-grupos, fueron los siguientes:

$A_1$	25.98
$A_2$	3.94
$A_1B$	2.44%
$A_2B$	0.75%

La utilización de porcentajes puede tener algún valor, aunque sea de probabilidad, en la identificación individual de la sangre humana, siempre que se base en resultados obtenidos en el mismo país y región, ya que varían grandemente de un país a otro y aún con pequeñas diferencias raciales.

Con sangre del grupo A, el elemento A será primeramente absorbido. Con sangre del grupo AB, el elemento B será absorbido -- primero, y mucho tiempo después el elemento A, antes de hacer la -- prueba de subgrupos. Después de la absorción con glóbulos  $A_2$  el suero puede tener un remanente moderado de aglutinina, capaz de aglutinar glóbulos  $A_1$  pero no  $A_2$ . La diferencia entre los sub-grupos  $A_1$  y  $A_2$  puede demostrarse pues, por la diferente absorción, la cual nos --

permite clasificarlos.

En la técnica aconsejada por Dungern y Hirsfeld, para los subgrupos de A y AB, el suero absorbido puede ser preparado mezclando suero del grupo O, o del grupo B, con una octava o cuarta parte de su volúmen, de glóbulos previamente lavados y centrifugados del subgrupo  $A_2$ . La mezcla se deja 30 a 60 minutos a la temperatura del laboratorio, y después se prepara el suero por centrifugación, y queda lista para usarse. Naturalmente que en cada caso deberán usarse para control, sangres de los sub-grupos  $A_1$  y  $A_2$ .

El método de Blinov para diferenciar los sub-grupos  $A_1$  y  $A_2$  consiste en colocar en el extremo derecho de una placa de vidrio, dos gotas de suero a; en el extremo izquierdo dos gotas de suero B, y en el centro de ellas, otras dos gotas del suero ab. A cada grupo se le añaden glóbulos de la sangre a examinar. Si los glóbulos añadidos son A, habrá aglutinación con el suero A y con el AB, pero no con el b. Para determinar los sub-grupos, una gota del suero absorbido, diluido a la mitad, se añade al suero b, que no ha reaccionado al añadir los glóbulos de la sangre experimentada, y al mismo se le añade también una gota de suero a y una gota de solución salina.

La placa de vidrio se agita suavemente durante unos minutos. En estas condiciones, si hay aglutinación, la sangre examina-

da será del sub-grupo  $A_1$ , y si el resultado es negativo en cinco o seis minutos, la sangre será  $A_2$ . Se recomienda que los sueros a y b que se empleen en la prueba, sean aproximadamente de la misma potencia, y que se usen dos gotas del suero b, con solo una gota del suero diluido a.

Usando lisina contenida en sueros del grupo O y B, puede hacerse la diferenciación entre glóbulos  $A_1$  y  $A_2$  actuando la lisina más fuertemente sobre el primero. Si se mezcla una gota de dicho suero, con una suspensión de glóbulos A en la proporción de 1:21 en un portaobjetos, los glóbulos  $A_1$  no serán aglutinados o lo serán sólo débilmente, después de que dichos glóbulos hayan sido hemolizados. Con glóbulos  $A_2$  se obtiene una fuerte aglutinación y éstos podrán ser ligera o completamente hemolizados. La prueba puede asimismo realizarse en un pequeño tubo de ensayo; el poder hemolítico de los sueros, deberá ser de una fuerza conveniente. Muy rara vez hemolizará glóbulos  $A_2$ .

Las dificultades para la obtención, preparación y conservación de los reactivos apropiados, hace que actualmente la determinación de los sub-grupos, que permite diferenciar un gran número de sangres, no sea en nuestro medio un procedimiento de rutina.

Por otra parte, Landsteiner y Levine, habían encontrado - en 1927, que cuando cierto suero inmune obtenido de conejos después de inyecciones de sangre humana, era absorbido con ciertas sangres humanas, éstas podían retener aglutinógenos que fueran capaces de actuar sobre la mayoría de las sangres de los cuatro grupos.

A dos de los factores revelados por éste suero, se les llamó M y N y tienen una gran importancia química legal. Nunca ocurre - el que le falten, ambos, en cualesquiera de los grupos, sino que por el contrario, siempre se encuentran en ellos, juntos o separados. - Sus propiedades permiten diferenciaciones individuales dentro de un mismo grupo, y hacer una nueva clasificación de la sangre en los siguientes doce agrupamientos: ABMN, ABM, AMN, AN, BMN, BM, -- OMN, OM, y ON.

Aunque como ya apuntó Lattes, el hecho de que la sangre - de una mancha sea clasificada en el mismo agrupamiento que la de un sospechoso, no es una prueba suficiente para afirmar que sea de él, es indudable que se aumenta el número de probabilidades; en otros - casos, dispondremos de un mayor número de elementos para llegar - a una conclusión de diferenciación, la que no se hubiera logrado si solamente nos hubiéramos limitado a los cuatro grupos clásicos.

Los tres tipos adicionales de sangre que pueden ser determinados por los aglutinógenos M y N, se designan como M, N y MN, y -- dado que Schiff ha establecido que la presencia de éstos factores pueden ser determinada desde el nacimiento, su importancia y utilidad químico legal es muy grande en el campo de la agrupación sanguínea.

La determinación del tipo al que una mancha pertenece, se basa en los resultados obtenidos de la absorción de los sueros anti M y anti N, con la sangre seca. Para demostrar la existencia de éstos -- antígenos, los conejos son inmunizados con corpúsculos humanos en los que éstos antígenos están presentes. Un antisuero así obtenido, y el cual aún no queda definido como perteneciente a un grupo -- específico, se define después de absorción realizada por medio de cor-- púsculos, los cuales son deficientes en el antígeno correspondiente M o N. Por tanto, mediante el suero absorbido, la presencia de éstos antígenos puede ser detectada.

La técnica aconsejada por Schiff para la producción de suero anti M y anti N, consiste en inyectar glóbulos rojos de personas -- que tengan éstos aglutinógenos, a conejos, varias veces y con intervalos de algunos días entre cada inyección. En el suero que se obten-- ga, también se encontrarán aglutininas específicas de la sangre humana.

Si se han empleado glóbulos A o B para la inmunización, éstos pueden ser removidos por la absorción del suero inmune con glóbulos humanos que estén libres de los aglutinógenos específicos. Steffan sugiere que los conejos sean inyectados repetidamente, con glóbulos rojos lavados conteniendo M o N, de preferencia del grupo O, para que se formen aglutininas contra A y B. Naturalmente, los cuerpos no-específicos o aglutininas específicas, serán absorbidos por el uso apropiado de glóbulos rojos que no contengan los aglutinógenos específicos en cuestión.

Para producir un suero anti M, el animal debe ser inmunizado con sangre OM, y para obtener un suero anti N, con sangre ON; el suero, después de dilución y absorción con glóbulos que contengan el factor en cuestión, sólo poseerá anticuerpos M o N.

En la práctica, los glóbulos procedentes de 10 ml. de sangre, después de lavados dos veces, se inyectan al animal intraperitonealmente, aplicando cinco o seis inyecciones, con intervalos de tres a cuatro días entre cada una de ellas. Como algunos conejos no resisten la prueba, es conveniente emplear seis para inmunizarlos simultáneamente. Finalmente se sangran, y el suero que se obtenga es inactivado calentándolo a 55° C, durante media hora. --

Después podrán ser liberados los anticuerpos no específicos. La absorción se efectúa añadiendo una cantidad igual de glóbulos rojos en suspensión, a temperatura ambiente. El suero del conejo debe primero diluirse con solución salina normal y el proceso de absorción debe repetirse varias veces. Es por demás recomendar, que el suero inmune obtenido no se almacene durante largo tiempo y que se mantenga en refrigeración a baja temperatura.

Para las pruebas pueden utilizarse ya sea portaobjetos o pequeños tubos de ensayo, y cada muestra que se examine deberá ser probada con diferentes diluciones de suero.

Tanto el Instituto Serológico de Viena, como algunos laboratorios de Norteamérica, preparan ambos sueros, anti M y anti N, que pueden adquirirse en forma seca, en tubos cerrados. El contenido de cada tubo debe disolverse completamente en 1 ml. de agua destilada, quedando así la solución en condiciones de usarse. Para investigar M y N, ésta solución se mezcla con cuatro, ocho o diez y seis partes de solución salina normal, poniendo en pequeños tubos de ensayo 0.1 ml. de una suspensión al 2% de glóbulos lavados, de la sangre a examinar. Se centrifuga, y las lecturas se hacen después de dos horas, a temperatura ambiente, también puede usarse un portaobjetos, mezclando una gota de la solución de suero, con una gota de una --

suspensión, del 10 al 20%, de los corpúsculos lavados sujetos a prueba.

Siguiendo la técnica de Wiener, con centrifugación, es posible hacer la prueba rápidamente de tal manera que la reacción final -- pueda leerse después de diez minutos. Se mezclan en un pequeño tubo de ensayo, una gota de fluido a examinar, dos gotas de solución -- salina y una gota de glóbulos en suspensión, y se centrifuga durante 5 minutos. Si la sangre desconocida contiene el aglutinógeno M o N, la masa de glóbulos centrifugados no se desintegrará al agitar el tubo, o sólo se dividirá en masas macroscópicas de glóbulos aglutinados.

En casos dudosos se recomienda hacer una prueba de confirmación en la cual una cantidad definida de la solución de suero, -- es absorbida por una quinta parte en volumen de los glóbulos que se están probando; si M o MN están presentes, el anti M será removido del suero M, puesto que no se encuentra unido a la sangre, si ésta -- es M.

Si el suero seco se protege de la luz, y se almacena y mantiene en las condiciones ya especificadas, podrá usarse por un período hasta de seis meses, mientras que en la forma líquida solamente servirá durante unas dos semanas.

Las reacciones para determinar M o N, por cualquier método, son más difíciles y delicadas que las pruebas ordinarias de isoaglutinación, debiendo usarse para control, sangres conocidas, a fin de poder determinar la actividad del suero. Para éste fin, debe disponerse de -- sangres A, B, M, N, MN y O, y usarlas en combinaciones variadas.

La incidencia del porcentaje obtenido por Schiff y Steffan en éste grupo específico de antígenos es la siguiente:

MN	50%
N	30%
M	20%

El Dr. Luis Sandoval S., que ha efectuado en Chile interesantes estudios, obtuvo los siguientes porcentajes:

MN	51.65%
N	18.62%
M	30.23%

Las pruebas efectuadas por Landsteiner y Levine, en muestras de sangre seca de algunas semanas de antigüedad, fueron confirmadas por Matta, lo que nos permite establecer, como se ha tenido oportunidad de demostrarlo experimentalmente, que es posible deter--

minar los factores M y N en manchas de sangre seca, determinando así el tipo al cual pertenece la sangre de la mancha. Sin embargo, debe ponerse sumo cuidado en la aplicación práctica de prueba, puesto que ciertos glóbulos MN reaccionan muy débilmente con el suero anti N, y ciertos glóbulos M pueden absorber, en forma no específica, suero anti N. Por lo que la principal fuente de error es que una mancha de sangre MN puede sólo absorber suero anti M, y consecuentemente se le considere como M, mientras que una mancha de sangre M pueda absorber suero anti N y ser considerada como MN.

Otras diferencias individuales de la sangre, pueden igualmente ser determinadas. Landsteiner y Levine, han descrito otros dos tipos P+ y P-, los que han evidenciado por un suero obtenido inmunizando conejos, y Schiff ha reportado el descubrimiento de un nuevo aglutinógeno H, mediante un suero inmune de carnero. El también ha indicado la presencia del factor G, que prácticamente puede considerarse presente en todas las sangres de los grupos A, B y AB, el cual logró evidenciar mediante un suero inmune de conejo. Imamura ha encontrado un tipo, al que llama Q, usando un suero de cerdo, y Sugushita ha reportado el tipo E, usando suero de ánguila.

De todos estos tipos, sólo los factores M y N, han sido estudiados detenidamente, mientras que los otros requieren más amplias -

investigaciones, antes de que puedan ser utilizadas en la práctica como métodos de rutina.

La demostración hecha por Schiff, de que ciertos sueros inmunes de excepcional potencia, preparados inyectando conejos con sangre humana del grupo A, dan reacciones precipitantes con las secreciones orgánicas de individuos llamados "secretores" (S), del grupo A y AB, establece posibilidades de utilización técnica, en la identificación individual de la sangre humana. Estos sueros son difíciles de preparar, por lo que se recurre a la técnica de inhibición, para lo cual se mezclan cantidades iguales de la secreción orgánica, (saliva, orina, sémen, sangre, etc.), con antisueros específicos para A y B respectivamente. Para las pruebas se utilizan extractos en solución salina, de las manchas secas de la secreción problema, haciendo igualmente extractos de las partes no manchadas del material en que se encuentra, a fin de -- que sirvan de control.

Las mezclas se dejan una hora a temperatura ambiente, o -- bien toda la noche en refrigeración, hasta que aparezca la fijación y se agregan las suspensiones de glóbulos para ver si los anticuerpos -- originalmente presentes en el suero de prueba, han sido neutralizados.

A la mezcla conteniendo suero anti A, se le agregan glóbu-

los A y a la anti B, glóbulos B, debiendo tenerse en cuenta la diferente capacidad de absorción de la sangre, o secreción ensayada, de los individuos  $A_1$  y  $A_2$ .

La interpretación de las reacciones es similar a la de las pruebas de absorción para aglutinógenos, en manchas de sangre seca. La neutralización del suero anti A o anti B, indica que la correspondiente sustancia grupo específica, se encuentra en la secreción o en la mancha de ella. Si ninguno de los antisueros es modificado, la secreción puede haberse derivado de un individuo del grupo O, aunque sin afirmarlo categóricamente, ya que la muestra en estudio puede haberse alterado, o el individuo ser un "no secretor".

En cuanto al factor Rh, cuya determinación es hoy en día de uso frecuentemente en los laboratorios de análisis clínicos, es un elemento más de que podemos disponer en la identificación individual de la sangre humana.

**METODO DE DERVIEUX.** - El método siguiente para la identificación individual de la sangre, es utilizable solamente cuando dicha sangre pertenece a un hombre, Cada tres días se aplica a un conejo una inyección subcutánea de 2 ml. de una misma esperma humana, pura y fresca, con espermatozoides vivos, hasta completar cinco dó--

sis. Al cabo de tres semanas se sangra al animal en la carótida y se recoge asepticamente el suero, conservándolo en ampojetas cerradas.

Este suero, precipita con el esperma y con la sangre humana, mientras que el suero preparado con sangre, sólo precipitará con la sangre. Su sensibilidad para la sangre en grandes diluciones, es mayor, lo que indudablemente es ventajoso. Además, según Derviux dá un precipitado más intenso con la sangre de un mismo individuo, - que con la de cualquier otro, por lo que la prueba tiene interés para la investigación del origen individual de la sangre, cuando ésta es de hombre.

Sin embargo, dado que la prueba se basa a éste respecto, - en una mayor o menor intensidad de la precipitación deberán hacerse en cada caso numerosas pruebas de control sobre sangres diversas, a diluciones análogas, para poder establecer comparaciones.

Los resultados de éste método no siempre son claros, pues - interviene en ellos el factor de apreciación y de experiencia personal, por lo que se debe ser reservado al establecer conclusiones.

\*

#### OTROS PROBLEMAS QUIMICO LEGALES RESPECTO A LAS MANCHAS DE SANGRE.

Aparte de los problemas ya numerados en relación con las man

chas de sangre, existen otros que pueden tener importancia químico - legal para el servicio de la justicia. Entre ellos el de la determinación de la antigüedad de una mancha de sangre, y el establecer por los charcos de sangre que rodean al cadaver de la víctima, el tiempo que ésta sobrevivió a la agresión.

#### ★ ANTIGÜEDAD DE UNA MANCHA DE SANGRE. -

La antigüedad de una mancha de sangre es muy difícil de -- precisar. Sin embargo, dentro de ciertos límites y con ciertas salvedades puede estimarse, sobre todo cuando se conocen las condiciones de medio y temperatura que la mancha ha permanecido, desde que se produjo hasta que la sometemos a exámen.

Para poder establecer apreciaciones, debemos tomar en cuenta:

COLOR.

BRILLO.

EL MATERIAL SOBRE EL CUAL SE ENCUENTRA.

EL MEDIO Y CONDICIONES ATMOSFERICAS EN QUE SE HA CONSERVADO.

SU GRADO DE FLUIDEZ, COAGULACION, O SEQUEDAD COMPLETA.

SU SOLUBILIDAD.

**COLOR:** El color de una mancha de sangre puede ser en términos generales: Rojo vivo, café rojizo o negro.

Ya hemos visto, que la sangre de las arterias es de color -- rojo vivo y la de las venas es de un color mas oscuro; pero partiendo del color rojo que inicialmente una y otra tienen, la mancha al secarse se va oscureciendo cada vez más, hasta ser café oscura al cabo de diez o doce días. Después del oscurecimiento sigue, pero muy lentamente, hasta hacer que el color sea casi negro.

Por lo general, cuando una mancha de sangre presenta ésta coloración negruzca, debe estimarse que se trata de sangre antigua.

El color de una mancha varía también según la superficie - que se encuentra. Sobre papel o tejidos claros, su color es rojo claro; sobre el suelo de madera es casi negro y sobre telas y tapicería de colores llega a alcanzar matices increíbles. Así, sobre el papel tapiz dorado por ejemplo, toma un color verde por la formación de óxido de cobre, y no aparenta ser sangre.

**BRILLO.** - Con el tiempo, las manchas de sangre pierden el brillo que tienen cuando son recientes y están bien secas.

El exámen a pequeño aumento con el microscopio estereoscó

pico, nos ha sido útil para estimar la brillantez y el pigmento de la --  
mancha.

**EL MATERIAL.** - La naturaleza del material o sustancia sobre el cual se encuentra depositada la mancha de sangre, puede modificar el color de ésta como ya vimos. Además su envejecimiento es más rápido sobre una superficie rugosa o áspera, y más lento sobre una superficie lisa. Particularidades individuales de la sangre pueden modificarlo, así como también la presencia de sustancias aceitosas pueden hacerlo variar, e incluso alterar la apariencia de la sangre.

**EL MEDIO.** - El medio y las condiciones atmosféricas en que se ha conservado la mancha, son un factor importante sobre su envejecimiento aparente.

El frío lo retarda el calor lo acelera; la luz tiene también importancia. El aspecto de una mancha de sangre, después de diez horas al sol, es análogo al que presentaría después de seis días con luz difusa.

Por lo tanto, al opinar deben tomarse en cuenta las condiciones en que se conservó la mancha, y si el estado que presenta puede deberse al tiempo transcurrido, y a otros factores como la exposición a la interperie, el aire, lluvia y sol, a gran humedad o elevada tempe--

ratura del medio ambiente, o a determinado proceso putrefactivo.

Si la mancha ha permanecido privada del contacto del aire, - su aspecto será distinto del que presentaría si hubiese sufrido un proceso de oxidación. Como ya sabemos que cuando la sangre coagula -- da quede algún tiempo en contacto con el aire, su color se vuelve pardo por haberse transformado la hemoglobina en metahemoglobina, la que puede ponerse de manifiesto en el exámen espectroscópico, y finalmente ésta, en un tiempo muy variable, se convierte en hematina gris.

El exámen a la luz ultravioleta, a distintas longitudes de onda, y comparando con muestras de control de antigüedad conocida, suele ser útil como orientador en determinados casos.

FLUIDEZ. - La fluidez, el estado de coagulación, o la sequedad completa que presente la sangre a examinar, serán otros tantos factores importantes para apreciar su probable antigüedad.

En estado completamente líquido, la sangre permanece solamente escasos minutos, salvo que se encuentre en presencia de sustancias que retarden su coagulación, por reducir los iones de calcio de la sangre, tales como el oxalato, el citrato o el fluoruro sódico.

Normalmente, al formarse un pequeño charco, la sangre em-

pieza a coagularse después de tres o cinco minutos, hasta llegar a formar un coágulo perfecto. El grado de coagulación en que se encuentre, podremos apreciarlo introduciendo un lápiz o un punzón cualquiera, -- secándolo y observando si la sangre volvió a cubrir el rastro dejado por él, o si quedó en el coágulo una marca visible y permanente que causa una coagulación más avanzada.

Una gota de sangre que cae sobre una superficie seca como -- una mesa o piso de madera, tarda en secar aproximadamente una hora a la temperatura de la habitación, pero si la sangre está en charcos, -- comienza a secar por los bordes, tardando de 12 a 36 horas en secar -- completamente; ésto depende de la extensión y profundidad de los charcos formados y de las condiciones externas.

Después de varias horas, y a partir de cuando la sangre está ya completamente seca, es muy difícil establecer con precisión su antiguedad, pues los cambios que en ella se siguen suscitando, son ya muy lentos y sujetos muchas veces a causa que escapan a todo control.

**SOLUBILIDAD.** - La sangre fresca se disuelve fácilmente en agua o suero fisiológico y da el aspecto de la oxihemoglobina, pero --- después de varios días, su disolución es más lenta y da por lo general el aspecto de la metahemoglobina neutra. Después de varias semanas

se disuelve muy poco en agua, pero puede disolverse en una solución de potasa al 2% y presenta el espectro del hemocromógeno. Pasando - varios meses, solamente se disuelve en solución de potasa al 33% y da también el espectro del hemocromógeno.

Algunas veces, en manchas muy antiguas, la hemoglobina puede haber sido transformada por el hierro libre, en hematoporfirina, la cual es muy resistente a disolverse. Esta puede caracterizarse por su fluorescencia color rojo ladrillo bajo la luz ultravioleta, cuando - está en un medio ácido, por lo que hay que agregar a la mancha una gota de ácido sulfúrico al efectuar el exámen y confirmar su presencia con el espectroscopio.

Siempre que sea posible y que la cantidad de sangre de que disponemos lo permita, conviene ensayar su solubilidad, para orientarnos respecto a su probable antigüedad.

#### TIEMPO QUE SOBREVIVIO LA VICTIMA A LA AGRESION. -

Al ocurrir la muerte, la presión sanguínea se anula por la - falta de bombeo del corazón y la sangre cesa de circular, para ir poco a poco acumulándose por la acción de la gravedad, en los tegumentos del cadáver a nivel de sus partes declives según la posición del cadáver, --

formándose así esas manchas en el cuerpo de color generalmente rojo - vinoso, llamadas "livideces", de tan gran importancia en tanatología forense para establecer la hora de la muerte.

Es decir, que los muertos no sangran salvo el caso de una herida de tal magnitud y situada en tal posición con respecto a la que guarda el cadáver, que por la misma ley de la gravedad la sangre siga manando de ella.

Cuando el charco de sangre que se encuentra junto al cadáver es grande, y la herida es pequeña y está en tal situación que la gravedad no haya influido en la salida de la sangre por ella, nos indicará que el corazón de la víctima siguió trabajando después de producida la lesión y que fué precisamente a causa del bombeo del corazón, el que la sangre haya seguido saliendo de la herida. O dicho en otras palabras, que la víctima vivió después de ser agredida.

En algunos casos, la causa de la muerte puede ser la misma pérdida de sangre. La víctima aunque sin estar herida de gravedad, -- suele quedar privada de conocimiento, por alguna contusión que se produjo al caer o que le causó el agresor, y la sangre al seguir saliendo la va debilitando, llegando a producir la muerte durante el estado de inconsciencia. Como dato orientador, tenemos el de que la pérdida -

de la tercera parte aproximadamente de la sangre del organismo ocasiona la muerte. Por lo que cuando encontramos junto al cadaver un charco como de unos 2 litros de sangre, producido por una pequeña herida situada en parte no declive, podremos estimar que la víctima sobrevivió al ataque y que la hemorragia causó la muerte.

El cuerpo tiene un mecanismo de defensa contra una hemorragia excesiva, y tan pronto empieza a escaparse la sangre en cantidad considerable, la presión sanguínea baja automáticamente y consecuentemente disminuye la pérdida de sangre y ésta es más lenta. El hecho de encontrarse pues un gran charco de sangre en las condiciones ya especificadas, acusa que tuvo que transcurrir largo tiempo, incluso dos o más horas para poder formarse.

En ocasiones se ha presentado el problema legal, en un caso de doble homicidio, de tener que establecer si el marido sobrevivió a su esposa o si murió el primero, lo que puede ser de gran importancia para la herencia y para el exacto cumplimiento de sus respectivas disposiciones testamentarias. La distinta cantidad de sangre encontrada junto a los dos cadáveres, puede resolver el caso, así como en otros permitirá confirmar la hipótesis de suicidio.

## C A P I T U L O IX

INVESTIGACION DE LA PATERNIDAD POR LA SANGRE.

El problema de la investigación de la paternidad, que se nos presenta profesionalmente, unas veces en lo particular y otras oficialmente en los tribunales de Justicia, es de gran trascendencia social - y entraña a veces dolorosos aspectos humanos, en que varios cónyuges reclaman angustiosamente, de buena fe, una paternidad a la que creen tener derecho.

Desgraciadamente, no es posible "a priori" asegurar a los padres en disputa, la resolución del problema. Cada caso es distinto y a veces, por exclusión, llegaremos a resultados de un evidente y definido valor, pero en otros tendremos que quedarnos, siguiendo una ética profesional estricta, en un terreno de duda o de simples probabilidades, que si bien pueden bastar para resolver determinada situación legal, no son suficientes para llevar la tranquilidad, que sólo da la certeza, a un hogar atribulado.

En síntesis, podremos afirmar en muchos casos, categóricamente, que un niño no es hijo de determinados padres, pero no podremos afirmar con la misma categoricidad que lo sea, sino simplemente acumular probabilidades, muy cercanas a la certeza si se quiere, pero -

sin llegar jamás a ésta de una manera plena. Es pues un problema - análogo al que ya hemos tratado, de la identificación individual de la sangre.

Por lo que respecta a la investigación técnica y como afirma el Dr. Díaz Padrón, en su interesante estudio sobre la determinación de la paternidad, sólo nos interesan al respecto los aglutinógenos - - existentes en los glóbulos por ser de carácter hereditario, y no las -- aglutininas, que aparecen en el suero por la existencia o no del aglutinógeno correspondiente en los glóbulos.

Según la teoría formulada en 1935 por Bernstein, basada en las leyes de Mendel y mundialmente admitida, los grupos sanguíneos - se transmiten de padres a hijos, por tres genes alelomórficos O, A, B, los que se combinan de dos en dos, dando así seis genotipos:

	AO	BO	
OO			AB
	AA	BB	

y cuatro fenotipos: O, A, B, AB.

Los genes A y B son dominantes y el O es recesivo por lo - - tanto, individuos de genotipo AO, se manifiestan en el fenotipo como A (igual que los que pertenecen al genotipo AA), y los individuos con ge-

notipo BO, se manifestarán en el fenotipo como B (igual que los que pertenecen, al genotipo BB). Esto da lugar a los cuatro fenotipos O, A, B, AB, sin que podamos distinguir, serológicamente, el genotipo AA (homocigoto), del AO (heterocigoto), ni el BO del BB.

Las uniones que pueden realizarse con los cuatro grupos - sanguíneos, sólo permiten cierto número de combinaciones, con los siguientes resultados, expuestos por Wiener:

GRUPOS DE LOS PADRES	GRUPOS DE LOS HIJOS	
	POSIBLES	IMPOSIBLES
O x O	O	A, B, AB
O x O	O, A	B, AB
O x B	O, B	A, AB
A x A	O, A	B, AB
A x B	O, A, B, AB	Ninguno
B x B	O, B	A, AB
O x AB	A, B	O, AB
A x AB	A, B, AB	O
B x AB	A, B, AB	O
AB x AB	A, B, AB	O

De la teoría de Bernstein se deducen dos leyes:

**Primera Ley:** Las propiedades A y B son dominantes sobre O, Y ellas no pueden aparecer en un hijo, sino - se hallan presentes en la sangre de uno de am

los progenitores.

Corolario: Estos aglutinógenos pueden no aparecer en los niños, aunque se hallen en los padres.

Corolario: La propiedad O, recesiva, puede aparecer en -- los niños, aunque no exista, aparentemente, - en los progenitores.

Segunda Ley: Los padres del grupo AB no pueden tener descendientes del grupo O, ni tampoco los del grupo O- pueden tener descendientes del grupo AB.

En consecuencia, si bien es cierto que por los grupos sanguíneos mencionados no podemos probar la paternidad, si podemos en muchos casos hacer exclusiones, y como generalmente el problema legal se plantea entre dos parejas de presuntos progenitores, al excluir a una de ellas con certeza, se afirman los derechos de la otra. Sin embargo, en algunas ocasiones ni siquiera podemos lograr una exclusión, como en - el caso de que las parejas en litigio tengan los mismos grupos sanguíneos, o cuando la sangre del hijo en disputa es de determinado grupo que lo -- mismo puede provenir de una pareja como de la otra.

En éstos casos, puede intentarse el seguir buscando la exclu-- sión de una de las parejas, recurriendo a los tipos sanguíneos M, N, y -

MN a que ya nos hemos referido en el capítulo anterior, y que al igual que los grupos sanguíneos, persisten hasta la vejez y son inmutables.

Las propiedades de éstos tres tipos sanguíneos, son transmisibles a los hijos por los genes alelomórficos M y N, originándose tres genotipos posibles MM, MN Y NN, que se manifiestan por los fenotipos M, MN y N.

Los aglutinógenos M o N se encuentran como ya vimos, en todas las sangres, y las leyes que los rigen respecto a su carácter hereditario, son los siguientes:

**Primera ley:** Las propiedades M y N no pueden aparecer en la sangre de un niño, si no se encuentran presentes en la sangre de uno o de ambos progenitores.

**Segunda Ley:** Un progenitor de tipo M, no puede tener un descendiente de tipo N, ni tampoco uno del tipo N, puede tener un descendiente del tipo N, ni tampoco uno del tipo N, puede tener un descendiente del tipo M.

Las combinaciones que pueden originarse, serán las siguientes:

PADRES	HIJOS POSIBLES	HIJOS IMPOSIBLES
M x M	M	N y MN
N x N	N	M y MN
M x N	MN	M y N
MN x M	M y MN	N
MN x N	N y MN	M
MN x MN	M, N y MN	Ninguno

Los porcentajes en que, dados los padres pueden presentarse en los hijos, son los siguientes:

TIPO DE LOS PADRES	PORCENTAJE DE DESCENDIENTES DE LOS TIPOS.		
	MN	M	N
MN x MN	50	25	25
MN x N	50	0	50
MN x M	50	50	0
M x N	100	0	0
M x M	0	100	0
N x N	0	0	100

La frecuencia con que los tipos se presentan, tiene necesariamente valor en Química Legal, al hacer un cálculo de probabilidades buscando la solución de un problema determinado.

Los aglutinógenos M y N, complementan y amplían el número de pruebas para la exclusión de la paternidad. Sin embargo, cuando los grupos y tipos sanguíneos de los presuntos padres, pueden dar lugar al grupo y tipo del hijo disputado, el problema sigue sin tener solución, y el estudio del caso debe continuarse, investigando el "factor de secreción" descubierto por Schiff, y del que ya nos hemos ocupado; es decir, determinado si los progenitores son secretores o no, de las llamadas "sustancias grupo específicas", las cuales se encuentran en todas las secreciones (saliva, sudor, sémen, orina, etc.), del 75% de los individuos que pertenecen a los grupos A, B y AB, pero no en los del grupo O.

A los que secretan éstas sustancias se les llama "secretores" (S) y a los demás "no secretores" (s), y como el carácter (S) es dominante sobre el (s), según las leyes de Mendel, tendremos los siguientes genotipos y fenotipos.

GENOTIPOS	FENOTIPOS
SS	S
Ss	S
ss	s

con las siguientes combinaciones posibles:

PADRES:		HIJOS:	
FENOTIPOS	GENOTIPOS	POSIBLES	IMPOSIBLES
s x s	SS x SS	s	S
	ss x ss	S	s
S x S	SS x Ss	S	s
	Ss x Ss	Todos	Ninguno
S x s	SS x ss	S	s
	Ss x ss	Todos	Ninguno

Estas combinaciones equivalen en los fenotipos a:

PADRES	HIJOS POSIBLES	HIJOS IMPOSIBLES
S x S	S y s	Ninguno
S x s	S y s	Ninguno
s x s	s	S

Dado que S y s revela propiedades individuales y específicos, - es evidente que su uso aumenta las posibilidades para determinar la exclusión de la paternidad. Igualmente son de utilidad a éste respecto, los subgrupos sanguíneos A<sub>1</sub> y A<sub>2</sub> a que ya nos hemos referido, en los que

según la teoría de Thomsen  $A_1$  domina a  $A_2$  y a O, y  $A_2$  domina a O, lo que norma los caracteres hereditarios.

Para  $A_1$  hay tres genotipos:  $A_1-A_1$ ,  $A_1-A_2$  y  $A_1-O$ .

Para  $A_2$  hay sólo dos genotipos:  $A_2-A_2$ , y  $A_2-O$ .

Las combinaciones que pueden efectuarse a partir de los genotipos, son análogas a las de los grupos sanguíneos, debiendo tomarse en cuenta su respectivo carácter dominante ya especificado.

En el siguiente cuadro se anotan las combinaciones matrimoniales de los sub-grupos  $A_1$  y  $A_2$  que pueden originar la exclusión de los hijos:

COMBINACION MATRIMONIAL :

HIJOS EXCLUIDOS:

O x $A_2$	$A_1$
O x $A_2B$	$A_1$
$A_2$ x $A_2$	$A_1$
$A_2$ x B	$A_1$ y $A_1B$
$A_1$ x $A_1B$	$A_2$
$A_2$ x $A_2B$	$A_2$ y $A_1B$
B x $A_1B$	$A_2$ y $A_2B$
B x $A_2B$	$A_1$ y $A_1B$
$A_1B$ x $A_1B$	$A_2$ y $A_2B$

$A_1B$	x	$A_2B$	$A$
$A_2B$	x	$A_2B$	$A_1$ y $A_1B$

En cuanto a la frecuencia con que se presentan éstos subgrupos, las estadísticas varían en los distintos países y con las distintas razas. Los resultados encontrados por el Dr. Luis Sandoval S. de Chile, en numerosas determinaciones hechas en su país, son los siguientes:

$A_1$	25.98%
$A_2$	3.94%
$A_1B$	2.44%
$A_2B$	0.75%

El estudio de nuevos subgrupos de B y AB, añade mayores posibilidades de resolución a éstos problemas, así como el factor Rhésus, descubierto por Landsteiner y Wiener en 1940, y simultáneamente por Moureau. Estos investigadores han obtenido un suero anti Rh inyectando a conejos, hematíes del macacus Rhésus. El suero anti Rh así preparado, tiene la propiedad de aglutinar los hematíes del 85% de individuos de raza blanca, a los que se les llama Rh positivos, dejando solamente un 15% de Rh negativos. En otras razas, éstos porcentajes varían.

Investigaciones recientes han evidenciado tres calses de aglutinógenos llamados Rh, Rh1 y Rh2 así como tres propiedades negativas, rh, rh1 y rh2 que pueden coexistir en el mismo individuo, independientemente hereditario, ligado a un gene único.

Fischer y Race, han propuesto designar los factores Rh por dos letras:

C = Rh <sub>1</sub> positivo.	D = Rh Positivo	E = Rh <sub>2</sub> positivo.
c = rh <sub>1</sub> negativo	d = rh negativo.	e = rh <sub>2</sub> negativo.

Los diferentes genotipos posibles se representan como sigue:

$\frac{CDE}{cde}$	$\frac{CDe}{cde}$	$\frac{CdE}{cde}$	$\frac{CDE}{cdE}$	etc.
-------------------	-------------------	-------------------	-------------------	------

Por lo tanto, enfocando el problema científicamente, tomando en cuenta los grupos y sub-grupos sanguíneos, los tipos y subtipos, así como factores tales como el Rh y otros, es posible llegar a un alto grado de evidencia al tratar de investigar la paternidad o el origen individual de la sangre humana. Simonin estima que el número de grupos serológicos, actualmente identificables en el laboratorio, se eleva teóricamente a 1.896, pero desgraciadamente, las dificultades técnicas en la aplicación de los métodos son grandes, por lo que las posibilidades en nuestro medio son limitadas.

Los Drs. Israel Castellanos y José A. Días Padrón, han efectuado en Cuba interesantes estudios de los grupos sanguíneos en relación

con la susceptibilidad que poseen los individuos de determinado grupo, para contraer ciertas enfermedades y los caracteres hereditarios que de ello pueden derivarse; además, han estudiado la relación entre la herencia de los grupos y las tendencias morbosas y antisociales, considerada la evolución patológica y social del progenitor de igual grupo, llegando a la conclusión de que cuando el descendiente tiene el mismo grupo de uno de sus progenitores, puede que éste evolucione en igual forma que su progenitor en sus caracteres somáticos, psíquicos y predisposiciones patológicas, pero que de tener el hijo los dos aglutinógenos de los padres, pueden predominar en él los caracteres de uno de ellos o manifestarse en partes iguales, como en el caso de que tanto los padres como el hijo sean del grupo O.

Los estudios de éstos distinguidos investigadores cubanos tienen un gran interés criminológico, y al respecto señalan haber comprobado entre los reclusos de Cuba, adultos, un aumento del grupo B y una disminución del grupo A.

## C A P I T U L O X.

### DETERMINACION DEL ORIGEN DE ALGUNAS MANCHAS. -

Establecido que la mancha en estudio es de sangre humana, pueden plantearse algunos problemas respecto a su origen, que entrañen por sí solos una gran importancia legal, y lleguen a ser fundamentales en determinada fase de un proceso.

Entre otros tenemos los siguientes:

1. - Si la sangre es de hombre o de mujer.
2. - Si la sangre procede de determinada parte del cuerpo.
  - a). - Sangre menstrual. Diferencia entre la sangre menstrual y la debida a un desgarro heminal.
  - b). - Sangre de una hemorragia determinada. Epistaxis, hemoptisis, hematemesis.

### SANGRE DE HOMBRE O DE MUJER. -

La solución de éste problema es difícil, pues en términos generales los métodos ensayados hasta la fecha no son absolutamente seguros y concluyentes, por lo que debe abordarse guardando las re-

servas necesarias en las conclusiones, según el caso particular lo exija.

En general puede decirse, que la sangre de mujer tiene un olor menos fuerte y menos agrio que la del hombre. Habrá casos en que se presume que se trate de sangre menstrual, y si el exámen revela sus características que especificaremos más adelante, podremos distinguirla de la del hombre. En otros casos, la diferenciación es más complicada y más insegura.

Derviux aconseja emplear el suero obtenido según la técnica descrita al final del capítulo IX, pues según él, éste suero aparte de las propiedades ya mencionadas, tiene la de precipitar con disoluciones de sangre de hombre, pero no con disoluciones incluso más concentrada de sangre de mujer, lo que permite abordar el problema de su diferenciación.

En cada caso, frente a la sangre problema, es aconsejable hacer varias purebas de control con sangres conocidas de hombre y de mujer, y a pesar de que éstas confirmen los resultados obtenidos, se debe ser cauto en las conclusiones, sobre todo cuando la sangre - problema no es reciente.

Por otra parte, y con el fundamento de que el carácter -- masculino o femenino de los cromosomas es transmitido por el óvulo fecundado, Barr y Bertram demostraron en 1949 que el sexo de una célula somática puede determinarse al microscopio, estudiando un sá telite nucleolar derivado de los cromosomas sexuales.

Posteriormente se ha demostrado además que puede establecerse la diferenciación sexológica en muchos tejidos del organismo, así como en los leucocitos polinucleares neutrófilos de la sangre -- humana.

Las preparaciones de sangre deben teñirse por el método -- Jenner Giemsa y con un aumento adecuado, generalmente bajo, es visible un apéndice característico en forma de "palillo de tambor" -- cuya cabeza de micra y media de diámetro, emerge del núcleo lobulado de los neutrófilos maduros, al que está unida por una finísima hebra de cromatina, en neutrófilos de mujer, y no debe confundirse con otros apéndices en maza, lóbulos pequeños, nódulos sésiles y -- formaciones en raqueta.

Las diferencias pueden establecerse claramente, ya que los apéndices en maza tienen una cabeza menor de una micra de diámetro y no son visibles a bajo aumento; los lóbulos pequeños tienen per

fil irregular, dos filamentos en vez de uno o falta de cromatina, y además son grandes que los apéndices en forma de "palillo de tambor"; los nódulos sésiles, no llegan a formar la estructura característica y los elementos en forma de raqueta, tienen un reborde de cromatina alrededor del centro más pálido que el de los "palillos de tambor".

Los estudios de Emery y Mc. Millan, confirmando los de Barr y Bertram, permiten determinar el sexo por el exámen de la piel, en biopsias y en autopsias; asimismo, preparaciones de frotis de la mucosa bucal, teñidas con cresil-violeta, revelan la cromatina característica del sexo femenino en los núcleos de las células epiteliales de la mujer, mientras que en la de los hombres no se ve la masa de cromatina, lo que tiene mucho importancia en -- Química Legal, pero cuyas técnicas no ahondamos por salirse del presente estudio.

El hallazgo en una preparación de sangre, de los característicos apéndices en forma de "palillos de tambor" en neutrófilos maduros, nos permite establecer con seguridad casi de certeza que la sangre estudiada es de mujer. Desgraciadamente no en todos los casos podemos intentar, por el estado en que se encuentra

la sangre problema, la aplicación de éste método de investigación.

### SANGRE MENSTRUAL. -

Cuando existe la posibilidad de que las manchas de sangre - sujetas a estudio, puedan ser de sangre menstrual, el exámen al microscopio nos servirá de mucho para aportarnos datos interesantes.

La sangre menstrual contiene escasas concreciones fibrinosas y en ella se encuentra, entre los glóbulos, células epiteliales procedentes de la mucosa vaginal. Para evidenciarlas, hacemos en primer lugar una maceración utilizando una porción de la mancha. Tomamos parte del líquido obtenido colocándolo en un tubo de ensayo, y hemolizamos los glóbulos rojos añadiendo una gota de ácido - acético, mediante centrifugación reunimos los elementos epiteliales en el fondo del tubo, y los extendemos luego en un portaobjetos, procediendo a secar la preparación, fijándola después con alcohol éter - y coloreándola con azul de metileno.

Examinada la preparación al microscopio, las células epiteliales se nos presentarán en forma de laminillas planas, de núcleo - pequeño y redondeado y borde a menudo reflejado, cuando se trata de sangre menstrual.

En la sangre menstrual se encuentran a veces parásitos, -- como *Trichomonas vaginalis*, que es un pequeño flagelado periforme, de 15 a 25 micras de longitud y de 7 a 12 micras de ancho, tiene tres flagelos anteriores que le permiten desplazarse hacia adelante y otro que se repliega hacia atrás, sobre el borde de una membrana ondulante. Este parásito, propio de los órganos genitales femeninos, es muy frecuente encontrarla en la vagina, llegando hasta formar la décima parte de la secreción vaginal en estados catarrales de secreción ácida, pero cuando la secreción es alcalina como en la menstruación, desaparece momentáneamente, enquistándose y reapareciendo la secreción ácida.

La sangre menstrual, según Smith, muestra numerosos cocos, bacilos y largas células epiteliales escamosas, algunas de las cuales dan la reacción iodophil. La prueba se hace disolviendo una pequeña parte de la mancha de sangre, en unas gotas de solución saturada de bicarbonato de sodio sobre un portaobjetos, añadiendo una gota de solución de lugol, cubriendo la preparación con un cubreobjetos y examinándola al microscopio. Si la sangre es menstrual, se verá un color rojo de las células iodophil.

En ocasiones, se nos ha planteado en el laboratorio, el problema de distinguir en una mancha seca de sangre de mujer, sobre -

una tela, si ésta proviene de un desgarro heminal o si se trata de sangre menstrual.

Claro está que el exámen médico oportuno podría haber resuelto el problema al encontrar signos de desfloración, pero en determinadas ocasiones, por circunstancias especiales del caso, el exámen médico no se practica, y únicamente se nos suministra una sábana o prenda de ropa con manchas de sangre ya secas, para emitir opinión acerca de su probable origen.

En los casos de estrupo o de violación, suele encontrarse sémen, pelos de pubis y, mezcladas con la sangre, células aisladas de origen vulvar y no uterino, cuyo núcleo es más voluminoso y oblongo, lo que permite diferenciarlas, ya que no tienen la forma de placas como las que proceden de la mucosa uterina. El estudio del caso, puede hacerse extensivo a la búsqueda de espermatozoides.

De todas maneras, el químico legista deberá ser sumamente cauto en sus conclusiones, ya que si el hallazgo de los elementos a que nos hemos referido, permite fundamentar conclusiones acerca de su origen, el no haberlos encontrado en el exámen, no probará que no existan.

### SANGRE DE UNA HEMORRAGIA DETERMINADA. -

Cuando las manchas de sangre se encuentran en la parte delantera de una prenda de ropa, el acusado suele atribuir las a una epistaxis, a una hemoptisis, o a una hematemesis.

En cualquiera de los casos, deberá comprobarse antes que nada si las manchas pueden corresponder por su grupo a la sangre del acusado, haciendo además el exámen microscópico buscando las particularidades de cada caso. El exámen médico del sujeto indicará además, si el acusado padece alguna enfermedad que haya podido producir la hemorragia de que se trata.

**EPISTAXIS.** - En la epistaxis, el exámen al microscopio - mostrará células epiteliales de pestañas vibrátiles. Cuando la mucosa nasal haya sido dañada como consecuencia de un fuerte golpe en la nariz, el examen puede ser revelador; pero como elemento -- orientador tiene principal importancia la colocación, forma y dirección de las manchas sobre la ropa, que puede confirmar o negar la hipótesis formulada, respecto al origen de la hemorragia.

**HEMOPTISIS.** - En la sangre hemóptica, el exámen al microscopio de una preparación de sangre, mostrará moco bron-

quial, células epiteliales de pestañas vibrátiles y fibras elásticas pulmonares.

• **HEMATEMESIS.** - En las hematemesis, vómitos de sangre - procedentes de una hemorragia de la mucosa gástrica o esofágica, -- se encontrará a la sangre mezclada con restos de sustancias alimenticias y células del tracto digestivo. También pueden encontrarse - en ella, las sarcinas del estómago.

## C A P I T U L O   X I .

### CONCLUSIONES

Con fundamento en lo ya expuesto, y siguiendo el curso de éste trabajo se llegó a las siguientes conclusiones: Que los componentes de la sangre son de gran importancia en Química Legal, - para poder determinar si una mancha es de sangre o no.

El contacto personal entre víctima y sospechoso es el objetivo principal que un investigador tratará de probar a través de -- un exámen cuidadoso de las prendas u objetos relacionados con el crimen y que se encuentran encaminados principalmente a la búsqueda de manchas de sangre. Todos los indicios tanto físicos como químicos, serán debidamente protegidos, rehuyendo el más leve contacto con ellas, a fin de evitar su destrucción o modificación, no -- debe cometerse el error de remover un objeto con el pretexto de protgerlo cambiándolo de lugar o posición.

El esclarecimiento del caso, y por lo tanto la prueba de inolencia o de culpabilidad dependen de la protección y exámen aún de la mínima fracción de prueba física, para lo cual se requiere gran -

experiencia criminalística. Conviene hacer incapie en la protección y envío adecuado de las pruebas, ya que en muchas ocasiones el valor de una prueba se pierde por causa de la oficina de investigación que hacen un mal manejo de la ropa, la mejor evidencia colectada después de algunas horas de investigación, puede resultar inservible por manejo inadecuado, si por el contrario se manejan adecuadamente, pueden descifrar las diferencias entre la falla o éxito de un delito.

Todo el campo de las evidencias es muy amplio y aún existe mucho por investigar, por lo que presentan un verdadero reto al ingenio y entereza del investigador, dándole la oportunidad para probar que nada es tan pequeño para no ser susceptible de examinarse.

Se puede probar si una mancha es o no de sangre, y si es de origen humano o animal, es posible determinar, dentro de ciertos límites, la altura de que cayó una gota de sangre; el ángulo de inclinación con que lo hizo; si goteó de una persona que estaba en reposo o en movimiento, y en éste caso, la dirección y sentido de dicho movimiento. Igualmente, si la sangre se proyectó con fuerza como ocurre con la sangre arterial, o si fluyó lentamente como la sangre venosa.

También por el exámen de una mancha, la diferenciación entre la sangre del hombre y la de la mujer, tiene sólo caracter de

probabilidad pero no de certeza.

Se puede probar en muchos casos, la no paternidad por el exámen de la sangre, el cual no permite probar la paternidad sino solamente establecer la posibilidad ella, con menor o mayor grado de probabilidades según el caso particular de que se trate.

Se puede precisar en muchos casos que el origen de una mancha de sangre, como por ejemplo sangre menstrual, al encontrarse en el exámen determinados elementos y características, así como también determinar el origen de otras hemorragias, al no encontrar dichos elementos, no tiene valor probatorio y la posibilidad subsiste respecto al origen probable.

La antigüedad de una mancha de sangre, salvo el caso - de que sea muy reciente, solamente puede establecerse con carácter de probabilidad y dentro de límites amplios de tiempo, para seguridad del diagnóstico.

Puede determinarse en algunos casos, por el exámen de los charcos de sangre que rodean el cadáver de un caso de homicidio, y por el carácter y ubicación de las lesiones que produjeron la hemorragia, el tiempo más o menos largo que la víctima sobrevivió, después de lesionada.

## C A P I T U L O X I I .

### BIBLIOGRAFIA.

AGASSE-LAFONT. E. - El Laboratorio Moderno del Médico Práctico.

ALVAREZ HERRERA. A. - Tanatología Forense.

BALTHAZARD. V. - Manual de Medicina Legal.

BARR. M. L. y BETRAM. E. G. - A Morphological Distinction Between Neurons of the Male and Female and the Behaviour of the Nucleolar Satellite During Accelerated Nucleo protein Synthesis.

BERUD GEORGES. - Précis de Criminologie et de Police Scientifique.

BOYD WILLIAMS C. - Forensic Immunology.

CAMERON A T. - Manual de Bioquímica.

CAROLYN E. GRAY. A. M., R. N. - Manual de Anatomía y Fisiología.

CASTELLANOS ISRAEL. - La Sangre en la Técnica Policial.

CASTELLANOS I. y DIAZ PADRON. J. A. Agrupación Sanguínea y - Patológica Médico-social de la Infancia.

CLARK. WALTER. - Photography by Infrared.

DAVISOHN. I. - The medicolegal Application of the Blood Grouping Test.

DAVIDSON. W.M. y SMITH. R. D. - A Morphological Sex Difference in the Polymorphnuclear Neutrophilleucocytes.

DERIBERE. MAURICE. - La Fotografía al Infrarojo.

DERVIEUX. - Procédé de Diagnostic Individuel du Sang et du Sperme.

DERVIUX et LECLERCQ. - Le Diagnostic des taches en Médecine Légale

DIAZ PADRON. JOSE A. - Determinación de la Paternidad por la Agrupación Sanguínea y Substancias Grupo-específicas.

EASTMAN KODAK COMPANY. - Photography in Law Enforcement.

EMERY. J. L. y McMILLAN. M. - Observations on the Female Sex Chromatin in Human Epidermis and on the Value of Skin Biopsy in Determining Sex.

GAJARDO. SAMUEL. - Medicina Legal.

GONZALEZ. THOMAS A. ? VANCE Y HELPERN. MILTON. - Legal Medicine and Toxicology.

GROSS. HANS. - Criminal Investigation.

GUIART. J. Manual de Parasitología.

- HAROLD HARPER. - Manual de Química Fisiológica.
- HAWK. P. B. y O. - Practical Physiological Chemistry.
- HEKTOEN. L. - The Precipitin test for Blood.
- JARDIN. J. L. Identification des Taches de Sang.
- KITCHEN. D. H. - Blood Tests.
- KOLMER. JOHN A. , Boerner. Fred. - Métodos de Laboratorio Clínico.
- LATTES. L. - Individuality of the Blood and in Clinical and Forensic  
Medicine.
- LECHAT. RENE. - Technique de L'enquete Criminelle.
- LEFRVRE. JULIAN. - El Análisis Espectral.
- LOCARD. EDMOND. - Manual de Técnica Policiaca.
- LUCAS A. - Forensic Chemistry and Scientific Criminal Investiga-  
tion.
- MARTIN ETIENNE. - Manual de Medicina Legal.
- O, HARA. CHARLES E. y OSTERBURG JAMES W. - An Introduction -  
to Criminalistic.
- PICKERING, HARRY S. - The Laboratory Detective.
- RADLEY. J. A. - Photography in Crime Detection.
- RADLEY. J. A. , y GRANT. JULIUS. - Fluorescence Analysis in Ultra  
Violet Light.
- RHODES. HENRY T. F. - Forensic Chemistry.

ROCHE LYNCH. The Technique of the Precipitin Test and its Forensic Value.

RODRIGUEZ GUSTAVO A. - Apuntes de Medicina Legal.

ROJAS NERIO. - Medicina Legal.

ROUMAGNAC. CARLOS. - Elementos de Policía Científica.

SANDOVAL S. LUIS. - Grupos, Subgrupos, Tipos y Factores Sanguíneos en Criminalística.

SCHUMANCHEN-MARIENFRID S. - Compendio de Histología Humana.

SIMONIN. C. - Medicine Légale Judiciaire.

SIMPSON. KEITH. - Forensic Medicine.

SMITH. SYDNEY., y GLAISTER. JOHN. - Recent Advances in Forensic Medicine.

SNYDER. LeMOYNE. - Homicide Investigation.

SODERMAN. HARRY., y O'CONNELL. JOHN J. - Modern Criminal -- Investigation.

SODI PALLARES. ERNESTO. - Peritajes Químicos.

TOPLEY. W. W. - Elementos de Inmunidad.

TORES TORIJA. JOSE. - Medicina Legal.

TRYHORN. F. G. - Scientific Aids in Criminal Investigation.

TURNER. RALPH F. - Forensic Science and Laboratory Technics.

VELARDE MA. VIRGINIA. - Identificación de Sangre Humana por la Prueba de la precipitina.

WEBSTER. RALPH. W. - Legal Medicine and Toxicology.

WEISS. RICARDO. - Métodos de Investigación para el Diagnóstico Clínico.

WEINER. ALEXANDER S. - The Medico-Legal Applications of Blood Grouping.

WOOD. - Chemical and Microscopial Diagnosis.