



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

**“Metodología para la recolección y preservación de una muestra
de sangre en el lugar de los hechos”**

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO.

P R E S E N T A:

LUIS ANTONIO PÉREZ MORALES

404029041

ASESOR: MARÍA TERESA MENDOZA MATA

MÉXICO, D. F.

OCTUBRE 2013.



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.

El crimen surgió con el hombre mismo y éste, consiente, de la punibilidad de su acción, ha intentado ocultar su responsabilidad en los hechos que día a día acontecen, la extrema urgencia de esclarecerlos llevó el surgimiento de la “Ciencia Forense”.

(Anónimo)

Dedicatoria

Mi tesina la dedico con todo amor y cariño.

A mis padres Gerardo y María de Jesús, porque creyeron en mí y me sacaron adelante al darme una carrera para mi futuro; dándome ejemplos dignos de superación y entrega, porque en gran parte gracias a ustedes, hoy puedo ver alcanzada mi meta, ya que siempre estuvieron impulsándome en los momentos más difíciles de mi carrera y de mi vida, además por el orgullo que sienten por mí, fue lo que me hizo ir hasta el final. Va por ustedes, por lo que valen, porque admiro su fortaleza y por lo que han hecho de mí.

A mi amor eterno Diana Ferniza, Por estar siempre a mi lado, brindándome toda su entrega, dedicación y sobre todo dándome su inmenso amor, conocimiento, comprensión, paciencia y por sacrificar su tiempo para que yo pudiera cumplir con el mío.

Por tu bondad y sacrificio me inspiraste a ser mejor para tí, ahora puedo decir que esta tesina lleva mucho de tí, durante estos años de mi vida a tu lado y ser una pieza clave en mi desarrollo profesional. Mil gracias por estar a mi lado sin condiciones.

También se la dedico a mi hijo Alexander ya que su nacimiento ha coincidido con el final de la Tesina.

Él es lo mejor que nunca me ha pasado, y ha venido a este mundo para darme el último empujón para terminar el trabajo.

Es sin duda mi referencia para el presente y para el futuro; es mi mayor motivación para nunca rendirme en los estudios y poder llegar a ser un ejemplo para él.

El a su vez me ha enseñado un lado de la vida que nunca me había imaginado como ser padre y saber siempre sonreír hasta en los peores momentos.

Agradecimiento

A nuestra casa de estudios la Universidad Nacional Autónoma de México y en especial a la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza por permitirme ser parte de una generación de triunfadores y gente productiva para el país.

Me gustaría agradecer sinceramente a mi tutor de Tesina Q. MARÍA TERESA, por su esfuerzo y dedicación. Sus conocimientos, sus orientaciones, su manera de trabajar, su persistencia, su paciencia y su motivación han sido fundamentales para mi formación para terminar éste trabajo. Gracias por no perder la fe (y si así ha sido), gracias por recuperarla. Gracias por tus consejos personales y académicos. Gracias por haberme apoyado tanto y siempre dando ese extra que pocos profesores son capaces de dar.

“Lo importante en la vida no es el triunfo sino la lucha. Lo esencial no es haber vencido, sino haber luchado bien.”

(Barón Pierre de Coubertin)

Índice

Resumen.....	8
1. INTRODUCCIÓN	9
2. MARCO TEÓRICO.....	10
2.1 Antecedentes históricos.....	10
2.2. La sangre.....	13
2.2.1. Composición de la sangre.....	14
2.2.2. El plasma.....	15
2.2.3. Los glóbulos rojos	15
2.2.4. Organización de la membrana eritrocitaria	16
2.2.5. <i>Hemoglobina</i>	17
2.2.6. <i>Peroxidasas</i>	18
2.2.7. Las plaquetas.....	18
2.2.8. Los glóbulos blancos	18
2.2.8.1. <i>Granulocitos neutrófilos</i>	19
2.2.8.2. <i>Granulocitos eosinófilos</i>	19
2.2.8.3. <i>Granulocitos basófilos</i>	19
2.2.8.4. <i>Linfocitos</i>	20
2.2.8.5. <i>Monocitos</i>	20
2.2.9. <i>Grupos sanguíneo sangre</i>	20
2.2.10. <i>Factor Rh</i>	22
2.2.11. <i>Coagulación</i>	22
2.2.12. <i>Afectaciones hemostáticas que se producen en la sangre</i>	22
2.3. Generalidades sobre la criminalística.....	23
2.3.1. <i>Deberes profesionales del perito</i>	25
2.3.2. <i>Criminalística de campo</i>	25
2.3.3. <i>La criminalística de laboratorio</i>	26
2.3.4. Indicios y evidencia.....	26
2.3.4.1. <i>Clasificación de indicios</i>	27
2.3.5. Cadena de custodia.....	28
2.3.5.1. Funciones de la cadena de custodia.....	29
2.3.5.2. <i>Fundamentos legales de la cadena de custodia</i>	29
2.3.5.3. <i>Principios básicos que rigen la cadena de custodia.</i>	30
2.3.5.4. <i>Protocolo cadena de custodia</i>	31

3. PROBLEMAS DE INVESTIGACIÓN	42
4. OBJETIVOS.....	43
5. METODOLOGÍA	44
6. RESULTADOS.....	45
6.1. Importancia criminalística de la sangre.....	45
6.2. <i>La sangre y el lugar del hecho</i>	46
6.2.1. <i>Qué observar de la sangre</i>	46
6.2.2. Las manchas sanguíneas.....	47
6.2.3. Hematología reconstructora	48
6.3. Hematología identificadora	59
6.4. <i>Metodología de investigación criminalística en sangre</i>	61
6.5. Técnicas de orientación para una mancha de sangre	64
6.5.1. <i>Técnica de la Bencidina o de Adler</i>	65
6.5.2. <i>Técnica de la Fenolftaleína reducida o de Kastle-Meyer</i>	69
6.5.3. <i>Técnica de la leuco malaquita verde</i>	73
6.5.4. <i>Técnica de la orto-tolidina</i>	75
6.6. Pruebas de certeza	80
6.6.1. <i>Técnicas espectroscópicas</i>	80
6.6.2. <i>Prueba del Luminol</i>	83
6.7. Técnicas de confirmación	86
6.7.1. <i>Prueba de Takayama o (hemocromogeno)</i>	86
6.7.2. <i>Cristales de hemina o cristales de Teichman</i>	89
6.8. Determinación de la naturaleza humana de una mancha de sangre	91
6.8.1 Pruebas de laboratorio para determinación de especie	92
6.8.2. <i>Reacción de Uhlenhuth o precipitinas</i>	92
6.8.3. <i>Precipitinas por inmoelectroforesis</i>	94
6.9. Determinación del grupo	94
6.9.1. <i>En sangre fresca</i>	95
6.9.2. <i>Determinación del grupo en sangre seca</i>	98
6.9.2.1. <i>Absorción- elusión</i>	98
6.9.2.2. <i>Determinación del grupo del sistema ABO en manchas de sangre por absorción-inhibición</i>	99
6.10. Diagnóstico del sexo del individuo de quién procede	100
6.11. Antigüedad.....	101
6.12. El lugar del hecho	102

6.13.	Levantamiento, embalaje y traslado de las muestras al laboratorio	103
6.14.	Recomendaciones para recoger indicios.....	105
6.14.1.	Protección del personal	105
6.15.	Protección de la muestra.....	106
6.16.	Recolección.....	108
6.17.	Traslado de indicios al laboratorio	115
6.18.	Almacenamiento de los indicios	115
6.19.	Preservación de la sangre como indicio.....	116
7.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS.	117
8.	CONCLUSIÓN	121
9.	REFERENCIAS.....	122

Resumen.

Se realizó una búsqueda exhaustiva de información más actualizada relacionada con la metodología para la recolección y preservación de manchas hemáticas en el lugar de los hechos; para ésto se recurrió a bibliotecas, instituciones, artículos científicos y medios electrónicos.

Este trabajo pretende ser una herramienta útil de tipo monográfico en el cual se apoyen los diferentes profesionales relacionados con el esclarecimiento de un presunto hecho delictivo ya, que este documento recopila la información de manera conjunta y ordenada, con imágenes, cuadros, así como diagramas de flujo de cada una de las diferentes técnicas utilizadas en el campo de investigación y en el laboratorio para la identificación de manchas de sangre.

Además, de contener ejemplos para la identificación de manchas de sangre ya que en ocasiones nos encontramos con falsos positivos.

1. INTRODUCCIÓN

En nuestro país, actualmente el índice de delincuencia y crímenes violentos, sigue en constante aumento y con ello la diversidad de formas en que se cometen los delitos. La investigación de éstos incluye ciencias y disciplinas que mediante el empleo del método científico, pueden aplicarse con fines legales para esclarecer la verdad histórica de un hecho probablemente delictuoso.

Por tal motivo, se realizó una exhaustiva búsqueda de información acerca de los crímenes violentos y las formas que se cometen los delitos, para poder aplicar algunas de las metodologías cuando exista la presencia de manchas sanguíneas en los cuales se ocupan las metodologías para la recolección y preservación de una muestra de sangre en el lugar de los hechos, así como las principales pruebas que se realizan a una mancha de sangre para determinar si realmente es una mancha de sangre, de quien corresponde y de donde proviene.

El presente trabajo, tiene como finalidad aportar una herramienta útil de tipo monográfico, en el cual se apoyen los diferentes profesionales relacionados con el esclarecimiento de un presunto hecho delictuoso.

El campo de las ciencias forenses es un proceso multidisciplinario que da apoyo a los criminalistas para poder realizar su trabajo, no solo de una manera más eficiente sino de una forma más certera, lo que es indispensable debido al ejercicio básico del criminalista que es dar solución a eventos criminales.

El objetivo prioritario de la ciencia criminalística, consiste en la identificación de los sujetos activos y pasivos del delito, de ahí que durante el progreso de esta ciencia han surgido una variedad de procedimientos y técnicas para, las cuales se han ido perfeccionando y en otros casos descartando.

Una de las actividades de la criminología que más énfasis recibe y da mayor información para el criminólogo es la sangre el cual es el principal fluido encontrado en una escena del crimen.

El primer paso de una investigación, es la inspección ocular técnica y posteriormente, la protección que se brinde a la escena o lugar de los hechos, de esto depende el éxito o fracaso de toda investigación relacionados con el esclarecimiento de un presunto hecho delictuoso, la búsqueda en la escena del crimen debe ser coordinada, planificada y realizada por el personal competente para localizar las evidencias físicas o de otro tipo; es importante resaltar que mientras se realiza la fijación de la escena del crimen no se debe tocar, cambiar o alterar cosa alguna hasta que esté debidamente identificada, medida y fotografiada.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes históricos

La hematología nace de la mano Leeuwenhoek en 1673 con el descubrimiento de los glóbulos rojos. En 1684 Robert Boyle, científico famoso por sus experimentos en el área de la neumática quien publicó resultados de algunos experimentos que él había hecho con sangre humana al tratarla con alcohol, ácido y carbonato de potasio. Entre sus conclusiones más recordadas en esta área fue el hecho de que describió la ceniza de la sangre como de un “color rojo ladrillo” sin embargo, nunca logró notar que esto se debía a la formación de óxido de hierro durante la combustión de la sangre¹.

En 1773 por W. Hewson, descubridor del linfocito, uno de los elementos presentes de la sangre. Tan importante aportación al campo de las ciencias, fue utilizada por los médicos forenses de antaño, quienes a la vez fungían como criminalistas, para comprobar la presencia de estos corpúsculos sanguíneos en una mancha cuestionada observando las células sanguíneas.

La objeción que se le hizo a esta novedosa técnica, consistió en que la comprobación de las células sanguíneas no se conseguía tan fácilmente, tanto en manchas antiguas como en recientes. Tal hecho, trajo como consecuencia su empleo restringido.

En 1787, Menghini demostró que la sangre contenía hierro. 1797 Wells se dio a la tarea de explicar porque la sangre cambia de color en presencia del aire. La hematina, componente de la sangre fue obtenida por primera vez en 1826 por Teichmann quien descubrió que la hemoglobina podía descomponerse por distintos métodos en sus constituyentes. Pigmento y proteína. Tan ilustre investigador, fue el primero en observar al microscopio esta escisión, al someter la sangre a la acción del ácido acético glacial y del cloruro de sodio, produciéndose cristales de clorhidrato de hematina, denominados “ cristales de Teichmann” en honor a su descubridor^{1,2}.

Mathiew Orfilaen 1813 hizo importantes contribuciones al desarrollo de las pruebas para, la determinación de la sangre en un contexto forense y se acreditan como el primer intento a la utilización de un microscopio en la evaluación de las manchas de sangre y semen.

En 1829, Barruel, ideó un método que permitía distinguir la sangre humana de la animal. Consistía en hervir la sangre que se quería identificar en ácido sulfúrico. El autor propuso que el olor que se desprendía cuando la sangre era humana, era distinto que el que se podía percibir cuando la sangre procedía de animales; incluso, señalaba, por el olor desprendido, era posible deducir si la sangre era de hombre o de mujer. Este método, pese a su falta de rigor, fue considerado importante durante bastante tiempo.

En 1856, los alemanes Kirchhoff y Bunsen descubrieron el análisis espectral al observar que la materia colorante de la sangre absorbe de un modo particular ciertos rayos del espectro.

En 1861, Van Deen, propuso un método que consistía en demostrar la existencia de peroxidasas en la muestra a analizar, provocando la oxidación de la tintura de guayaco por el oxígeno.

El alemán Schönbein, en el año de 1863, descubre al observar que la hemoglobina tenía una enzima mediante el cual el peróxido de hidrógeno producía espuma blanca (catalasas que hidrolizan el agua oxigenada, liberando oxígeno y agua); más tarde comprobó también que esta reacción no sólo se obtenía con la sangre sino también con otros oxidantes.

1898 Roberto Magnanini, señala que al tratar la sangre humana con hidróxido de potasio se formaba hematina, la que poseía un espectro diferente³. El cambio se producía a diferentes velocidades según se tratara de sangre humana o animal; con sangre humana lo obtenía en 2 minutos, con la sangre de perro en 6 minutos, con la de caballo en 3 minutos, etc. El método tenía el inconveniente de ser útil solamente en sangre fresca.

A fines del siglo XIX la criminalística tan sólo podía asegurar si una mancha era o no de sangre, aplicando fundamentalmente las siguientes técnicas: visualización microscópica de glóbulos rojos, formación de "cristales de Teichmann" y análisis espectral.

En 1900, Karl Landesteiner, biólogo austriaco, realizó la primera observación de aglutinación de los eritrocitos humanos presentes en el suero, lo que condujo al descubrimiento de los grupos sanguíneos A, B y O. En 1937 Karl Landesteiner y Wiener, descubrieron los factores Rh. Estos importantes descubrimientos se siguen aplicando en el campo de la criminalística.

1901 Paul Uhlenhuth, observó que el tejido hemático poseía la cualidad de producir anticuerpos específicos contra cualquier tipo de albúmina extraña. De esta manera, si se inyectaba sangre humana a los conejos, al cabo de 4 semanas se obtenía un suero que precipitaba solamente con sangre humana. Uhlehuth da a esta prueba el nombre de "prueba de las precipitinas".

En 1904, Adler, describió un método para identificar manchas de sangre utilizando bencidina y más adelante, en 1911, Von furth, propuso la utilización de la leucomalaquita verde en sustitución de la bencidina.

El método de Von Furth, fue modificado en 1912 por Michel, y unos años después, en 1931 por Medinger. También en 1912, Ruttan y Hardisty, utilizaron la O-Toluidina, sustituyendo a la bencidina en la prueba de Adler. Transcurrido más de un cuarto de siglo, en 1939, Gershenfeld, propuso sustituir la bencidina por O-Toluidina.

En 1912 Masaeo Takayama desarrollo otro método microcristalografico para detectar hemoglobina, usando cristales de hemocromogeno.

En 1915 Leone Lattes, profesor en el Instituto de Medicina Forense en Turín, Italia, desarrolló la primera prueba de anticuerpos de grupos sanguíneos ABO para resolver una disputa conyugal.

En 1923 Vittorio Siracusa Italiano desarrolló la técnica absorción para ABO de pruebas de manchas de sangre.

En 1940 Landsteiner y Wiener, describieron por primera vez el factor Rh de la sangre.

A principios del siglo XX, la criminalística no podía determinar la procedencia de la mancha de sangre, solamente si la mancha de sangre era de procedencia humana³.

2.2. La sangre

Este fluido orgánico es una de las diversas especialidades que tiene la ciencia forense. Es el indicio más importante a la hora del esclarecimiento de un hecho y es el más frecuente, cuando se encuentra éste, debe ser cuidadosamente estudiado.

La sangre es un tejido fluido que posee un color rojo característico, debido a que dentro de los glóbulos rojos (eritrocitos) hay un pigmento llamado “hemo”, que se une a una proteína, la “globina” y forman la hemoglobina, ésta es la encargada de transportar el oxígeno y se transforma en oxihemoglobina (HbO_2), lo que proporciona la coloración rojo brillante en la sangre arterial y rojo cereza en las venas.

La sangre es impulsada por el corazón y circula por los vasos sanguíneos del cuerpo de las personas, transportando además del oxígeno, nutrientes y productos de desecho; realiza un recorrido de regreso hacia los pulmones por medio de las venas y de los denominados capilares⁴. En los pulmones, la sangre cede el dióxido de carbono que ha captado para ser desechado, recupera una nueva carga de oxígeno y con esto vuelve a empezar su ciclo. Este ciclo se puede representar de la siguiente manera figura 1:

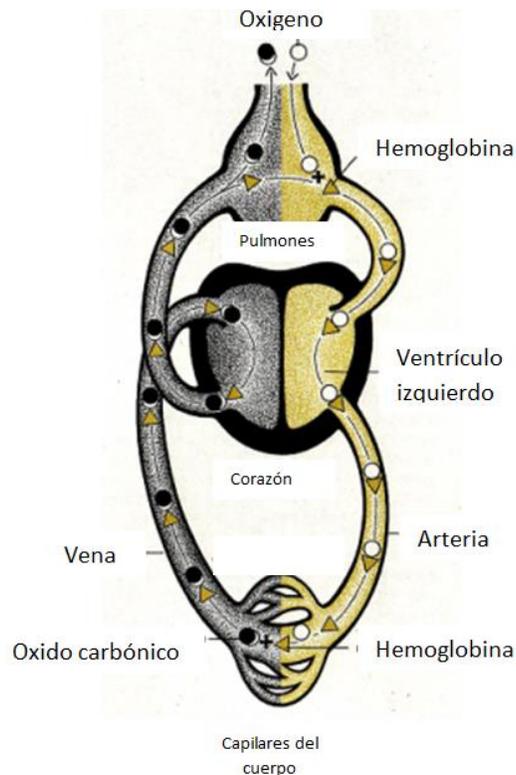


Figura 1. Esquema de circulación sanguínea⁴.

2.2.1. Composición de la sangre

La sangre está formada por un líquido amarillento denominado plasma, en el que se encuentran en suspensión millones de células que suponen cerca del 45 por ciento del volumen de sangre total. Una gran parte del plasma es agua con el 91 por ciento. La sangre humana está compuesta por glóbulos rojos, llamados eritrocitos o hematíes; los glóbulos blancos que reciben el nombre de leucocitos; y las plaquetas llamadas trombocitos. La sangre transporta muchas sales y sustancias orgánicas disueltas figura 2.

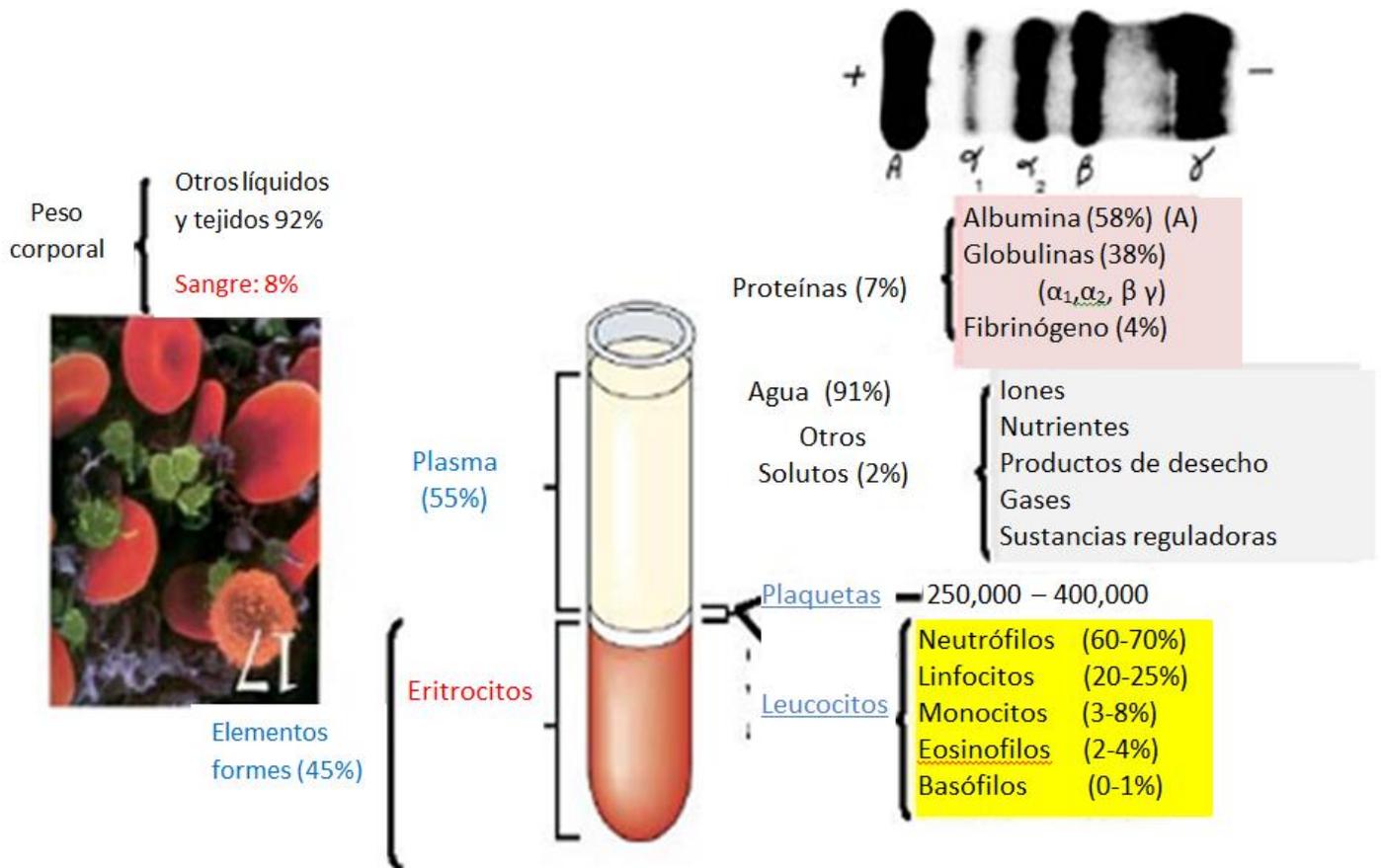


Figura 2. Composición elemental de la sangre⁵.

La sangre tiene una densidad relativa que oscila entre 1,056 y 1,066. El pH de la sangre es aproximadamente de 7.35 a 7.45. El bióxido de carbono reacciona con el agua para formar un ácido carbónico, (H_2CO_3), por lo que el incremento de la concentración de bióxido de carbono aumenta la acidez de la sangre, lo que a su vez hace disminuir la capacidad de la hemoglobina para acarrear el oxígeno⁵.

2.2.2. El plasma

El plasma es una mezcla compleja de proteínas, aminoácidos, hidratos de carbono, lípidos, sales, hormonas, enzimas, anticuerpos y gases en disolución además de contener varias clases de proteínas, cada una con sus funciones y propiedades específicas: fibrinógeno, globulinas alfa, beta y gama, albúminas y lipoproteínas. El fibrinógeno es una de las proteínas destinadas al proceso de coagulación; la albúmina y las globulinas regulan el contenido de agua dentro de la célula y en los líquidos intercelulares.

La fracción globulina gamma es rica en anticuerpos, sirve contra determinadas enfermedades infecciosas. La presencia de dichas proteínas hace que la sangre sea unas seis veces más viscosa que el agua. Las moléculas de las proteínas plasmáticas ejercen presión osmótica, con lo que son parte importante en la distribución del agua entre el plasma y los líquidos tisulares. Las proteínas del plasma y la hemoglobina de los glóbulos rojos son importantes amortiguadores ácido-básico que mantienen el pH de la sangre y de las células corporales dentro de una pequeña variación⁶.

2.2.3. Los glóbulos rojos

Los eritrocitos, son discos con un diámetro aproximado de 7.5 micras y en la mayoría de los mamíferos carecen de núcleo. Estos glóbulos superan en una proporción de 700 a 1 a los glóbulos blancos.

El eritrocito tiene la tarea de recoger el oxígeno de los pulmones y llevarlo al resto del cuerpo y transportar de regreso el anhídrido carbónico^{5,6}.

Su eficacia como transportadores de oxígeno se debe a la presencia de su principal proteína que es la hemoglobina la cual posee la propiedad de pegarse al oxígeno y no lo suelta hasta que ésta llega a su destino, lo que es de vital importancia ya que el oxígeno se disuelve fácilmente en el plasma y de no existir la hemoglobina, el oxígeno en la sangre podría durar apenas de 2 a 3 segundos. Una deficiencia en la cantidad de hemoglobina produce la enfermedad conocida como anemia.

2.2.4. Organización de la membrana eritrocitaria

El modelo que se observa en la figura 3 detalla la red de proteínas de membrana asociadas con el citoesqueleto y que están involucradas en el control de la forma del eritrocito, uniones con otras células y con el sustrato, así como en la organización de dominios especializados de la membrana, el componente de mayor masa molecular en el citoesqueleto de la membrana del eritrocito es la espectrina.

La estructura de la doble capa lipídica es fundamental en la organización del citoesqueleto, en especial la banda 3 constituye el elemento central de un macrocomplejo de proteínas integrales y periféricas en la membrana del eritrocito.

La glicoforina A (GPA) es predominante en la superficie de los eritrocitos humanos. La GPA no interactúa significativamente con el citoesqueleto de la membrana del glóbulo rojo aunque se ha observado que la unión de anticuerpos específicos puede producir un incremento en la rigidez de la membrana. La variación de la presión osmótica induce sobre las células una lisis progresiva y una modificación⁷.

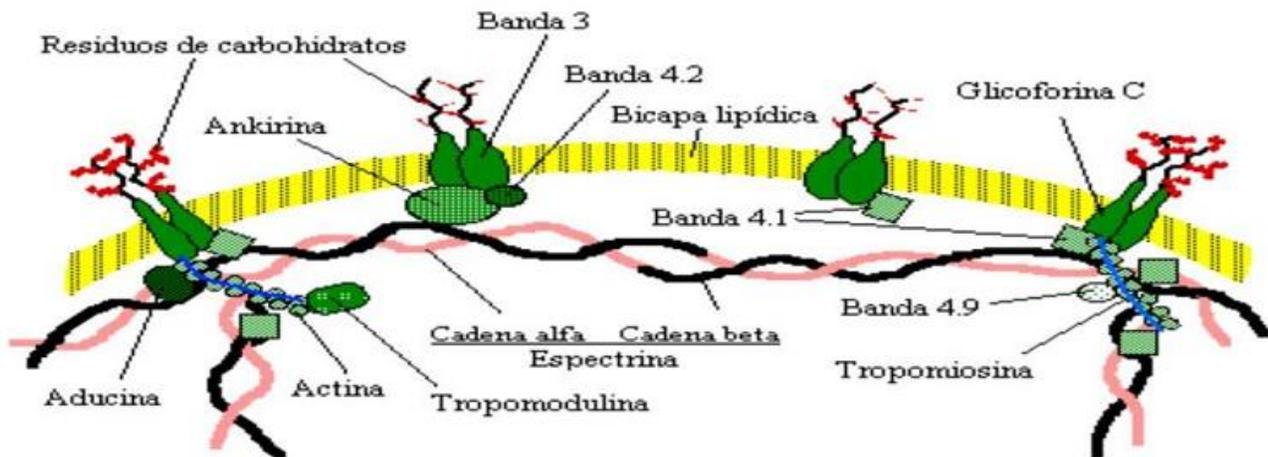


Figura 3. Membrana eritrocitaria⁷.

2.2.5. Hemoglobina

La hemoglobina (Hb) es una heteroproteína de la sangre, de peso molecular 68,000 (68 kD), constituye el 90 por ciento del eritrocito y es la que les proporciona su color característico rojo, aunque esto sólo se da cuando el glóbulo rojo está cargado de oxígeno. Tras una vida media de 120 días, los glóbulos rojos son destruidos y extraídos de la sangre por el bazo, el hígado y la médula, donde la hemoglobina se desintegra. Sin embargo, el hierro es reutilizado para formar nueva hemoglobina⁴.

La forman cuatro cadenas polipeptídicas (globinas) a cada una de las cuales se une un grupo hemo, cuyo átomo de hierro es capaz de unirse de forma reversible al oxígeno. Sus valores de referencia⁵ son:

- ❖ Recién nacidos: 17 a 22 g/dL
- ❖ Una semana de edad: 15 a 20 g/dL
- ❖ Un mes de edad: 11 a 15 g/dL
- ❖ Niños: 11 a 13 g/dL
- ❖ Adultos Hombres: 14 a 18 g/dL
- ❖ Para Mujeres: 12 a 16 g/dL

Los niveles normales de hemoglobina están entre los 12.5 y 17 gramos por litro y es proporcional al número de hematíes.

Tipos de hemoglobina:

Hemoglobina A o **HbA**, llamada también hemoglobina del adulto, representa aproximadamente el 97% de la hemoglobina en el adulto. Está formada por dos globinas alfa y dos globinas beta.

Hemoglobina A2: Representa menos del 2,5% de la hemoglobina después del nacimiento. Está formada por dos globinas alfa y dos globinas delta. Sufre un aumento marcado en la beta-talasemia, al no poderse sintetizar globinas beta.

Hemoglobina F: Hemoglobina fetal: formada por dos globinas alfa y dos globinas gamma. Tras el nacimiento desciende la síntesis de globinas gamma y aumenta la producción de globinas beta.

2.2.6. Peroxidasas

La peroxidasa es una óxido-reductasa, son hemoproteínas que contienen un grupo prostético Hemo y utilizan el peróxido de hidrógeno como sustrato oxidante en el sitio activo, la cual descompone el peróxido de hidrógeno en presencia de un donador de hidrógeno.

Las peroxidasas son enzimas que catalizan la siguiente reacción⁸:



La peroxidasa, característica de los hematíes es la Glutathion Peroxidasa, tiene como sustrato común el H_2O_2 (peróxido de hidrógeno). La gran afinidad por este sustrato hace que se pueda unir al hierro del grupo Hemo⁹.

2.2.7. Las plaquetas

También llamadas trombocitos. Las plaquetas son los componentes celulares más pequeños de la sangre. Hay alrededor de unas 250,000 plaquetas por cada centímetro cúbico de sangre⁵ y circulan en el torrente sanguíneo sin tener actividad alguna hasta que encuentran un vaso sanguíneo dañado, es el momento que entran en acción; las plaquetas se acumulan en el orificio cerrándolo y liberando entre otras cosas serotoninas que es un vasoconstrictor. Luego, activan a una proteína de la sangre llamada fibrinógeno que es soluble para convertirlo en fibrina que es insoluble. La fibrina fabrica una red tridimensional en donde quedan atrapados todos los componentes de la sangre completando así el proceso de coagulación.

2.2.8. Los glóbulos blancos

Los glóbulos blancos son conocidos como leucocitos y al igual que los eritrocitos se forman en la médula ósea y su función primordial es proteger al organismo del ingreso de microorganismos patógenos. En el torrente sanguíneo existen cuatro tipos de glóbulos blancos: linfocitos T, linfocitos B, monocitos y granulocitos.

La mecánica de trabajo de los glóbulos blancos podría definirse como sigue: los monocitos y linfocitos no contienen gránulos, pero cuando los granulocitos detectan un microorganismo invasor, los linfocitos y monocitos lo encuentran y se lo comen. Luego los monocitos examinan las partes de proteína que formaban el microorganismo para analizar de qué estaba constituido. Después, los monocitos llaman a los linfocitos T para que reconozcan como era el microorganismo, y éstos a su vez convocan a los linfocitos B, los cuales crean una arma especial llamada anticuerpo para atacar a esos gérmenes. Los linfocitos B crean muchas copias de estas armas o anticuerpos. Cuando los anticuerpos encuentran su objetivo lo atacan, hieren y matan, para que luego los granulocitos y monocitos terminen con él. En una sola gota de sangre hay entre 7.000 y 25.000 glóbulos blancos⁶.

2.2.8.1. Granulocitos neutrófilos

Por lo general, son los leucocitos que se observan con mayor frecuencia en los frotis normales de adultos. Tienen 10-14 micras de diámetro. El núcleo se tiñe de violeta intenso con la tinción de Wright, y tiene diversas formas, dando lugar al nombre alternativo de leucocito neutrófilo polimorfonuclear. En el leucocito joven (neutrófilo juvenil, con núcleo hendido, en cayado o banda) el núcleo no es segmentado. En los neutrofilos ya viejos (neutrófilos segmentados) el núcleo está dividido en 2 a 5 lóbulos que se hallan conectados por un fino puente de cromatina. El citoplasma de los neutrófilos se tiñe de color rosa pálido con la tinción Wright y contiene gránulos que se tiñen de color rojo a violeta y por lo general son pequeños^{4,5}.

2.2.8.2. Granulocitos eosinófilos

Generalmente, se parecen a los neutrófilos, pero son algo mayores. El núcleo contiene dos lóbulos y el citoplasma está apretujado con gránulos relativamente grandes de color rojizo-pardusco.

2.2.8.3. Granulocitos basófilos

En términos generales se parecen a los neutrófilos. El núcleo está semi oculto por grandes gránulos de color violeta que llenan el citoplasma.

2.2.8.4. Linfocitos

Son los leucocitos más pequeños de la sangre, variando aproximadamente de 7 a 14 micras de diámetro; a veces se distinguen dos tipos: el pequeño y el grande. El núcleo está redondeado o con muescas leves y llena el mayor espacio de la célula. El material nuclear está arreglado en masas densas que se tiñen con un color púrpura muy intenso. El citoplasma tiene color azul claro algunas veces contiene gránulos azurófilos.

2.2.8.5. Monocitos

Desempeñan dos funciones en el sistema inmunológico: 1) fagocitosis, a través de la producción de macrófagos; 2) presentación de antígeno en la superficie de los linfocitos T. Los monocitos son los leucocitos de mayor tamaño, midiendo entre 7 y 15 μm , con una proporción entre el 4 al 8 por ciento en la sangre. Presenta un núcleo arriñonado, que se tiñe de color violeta-azulado con una proporción 2:1 con respecto al resto de la célula, y tiene una depresión profunda.

2.2.9. Grupos sanguíneo sangre

La determinación del grupo sanguíneo en la práctica forense aporta a los tribunales, en pocas ocasiones, elementos de prueba muy importantes para señalar si una mancha de sangre recogida del lugar de los hechos puede provenir de la víctima o bien del victimario; o con mayor certeza indicar que no puede haber analogía entre la sangre encontrada y la de la víctima o la de su presunto agresor.

En 1901, Landsteiner descubrió la existencia del sistema ABO, al observar que la sangre humana tenía características individuales que se manifiestan por reacciones de aglutinación, pues encontró que los eritrocitos o glóbulos rojos de una persona eran aglutinados o agrupados por el suero sanguíneo de solamente algunos otros individuos¹⁰. Este descubrimiento dio origen al hallazgo del sistema ABO.

El grupo sanguíneo ABO sigue siendo el más importante en la actualidad. La presencia o ausencia en los eritrocitos de los antígenos de grupo sanguíneo A y B, determinan los cuatro grupos del sistema, por lo tanto podemos encontrar individuos pertenecientes a los siguientes grupos: A, B, AB y O; clasificación en la que el O denota la ausencia de A y de B.

Un hecho sobresaliente de este sistema es la presencia regular de anticuerpos anti-A y anti-B en el suero de individuos cuyos eritrocitos no tienen el correspondiente antígeno o aglutinógeno. El aglutinógeno de los eritrocitos y los anticuerpos contenidos en el suero como se muestra en la figura 4.

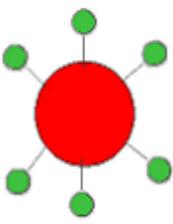
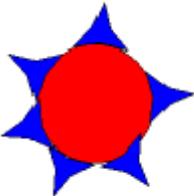
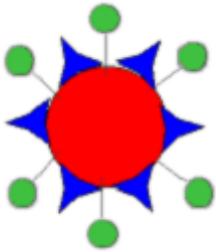
Grupo sanguíneo	A	B	AB	O
Glóbulos rojos				
En la membrana	 Antígeno A	 Antígeno B	Antígenos A y B	No antígenos
En el suero	Anti-B	Anti-A	No anticuerpos	Anti-A y Anti-B

Figura 4. Aglutinógenos en el eritrocito y los anticuerpos contenidos en el suero¹⁰.

Individuos A tendrán anticuerpos anti-B

Individuos B tendrán anticuerpos anti-A

Individuos AB no tendrán anticuerpos de este tipo

Individuos O tienen los dos tipos de anticuerpos.

2.2.10. Factor Rh

Los factores Rh se descubrieron en la sangre del mono Rhesus en 1937. Este primer aglutinógeno Rh, que correspondía a lo que se denomina en la actualidad Rh, está presente en la sangre de casi el 85 por ciento de los seres humanos. La presencia de factores Rh en la sangre está controlada por las leyes de la herencia. Un individuo que posea un gen que codifique la existencia de factor Rh expresará dicho factor en los glóbulos rojos¹¹.

2.2.11. Coagulación

La coagulación es el proceso por el cual se forma un coágulo sanguíneo. Comienza en respuesta a una lesión en un vaso sanguíneo. En el proceso de coagulación se producen una serie de reacciones en cadena en las que participan varios tipos celulares y proteínas solubles de la sangre con el objetivo de formar un coágulo para evitar la pérdida excesiva de sangre. Un coágulo consiste en una red de proteínas insolubles como la fibrina con plaquetas y células atrapadas que bloquea la salida de sangre hasta que se repare el tejido. Se distinguen dos rutas de activación de la cascada de coagulación conocidas como vía extrínseca y vía intrínseca. Hacen referencia al lugar donde se inicia la cascada de coagulación: el interior de un vaso sanguíneo (intrínseca) o fuera de un vaso sanguíneo (extrínseca). Ambas vías convergen en la activación del factor Xa que transforma la protrombina en trombina. En el paso siguiente la trombina genera fibrina a partir de fibrinógeno.

La coagulación total se produce entre 5 y 10 minutos aproximadamente, y va a depender de cada organismo, del sexo, si la persona está medicada, etc.

2.2.12. Afectaciones hemostáticas que se producen en la sangre

El diagnóstico en Criminalística, debe realizarse en condiciones que difieren de la rutina clínica, considerando que se trata del análisis de manchas hemáticas en las que se ha depositado el estroma eritrocitario y los componentes plasmáticos, debido a la desecación y de otros efectos ambientales, sufren distintos procesos de transformación y descomposición que son necesarios conocer y estudiar con el objetivo de dirigir la marcha analítica de investigación y ofrecer una respuesta veraz en las pericias biológicas que se realicen.

Los mecanismos de coagulación y fibrinólisis que en los seres vivos interactúan para mantener el equilibrio hemostático, al cesar las funciones vitales, sufren un importante desequilibrio que se manifiesta en el predominio de la actividad fibrinolítica y en una transformación gradual de los componentes del flujo sanguíneo, produciéndose lo que se conoce como “descoagulación postmortem”.

Una determinación de suma importancia en el campo de las ciencias forenses, lo constituye el esclarecimiento de la fecha de la muerte, atendiendo a la cantidad de elementos que aporta en la investigación de un delito por lo que es un aspecto que debe ser establecido con la mayor precisión.

Otro aspecto es la transformación bioquímica que se produce en los componentes de la sangre. Como resultado de los procesos autolíticos se produce la hemólisis al hacerse permeable la cubierta lipídica de los hematíes. La hemoglobina entonces da lugar a diversos derivados por el efecto del ácido sulfídrico enteral, formándose sulfometahemoglobina; el establecimiento de éste y sucesivos derivados de la hemoglobina, constituye en la actualidad, uno de los aspectos utilizados en la determinación de la antigüedad¹².

2.3. Generalidades sobre la criminalística

El maestro Moreno González, define la criminalística como "la disciplina que aplica fundamentalmente los conocimientos, métodos, técnicas de investigación de las ciencias naturales en el examen de material sensible significativo relacionado con un presunto hecho delictuoso, con el fin de determinar, en auxilio de los órganos encargados de administrar justicia, su existencia o bien reconstruirlo, o bien señalar y precisar la intervención de uno o varios sujetos en el mismo"¹³.

El término criminalística fue empleado por primera vez por Hans Gross en su libro acerca de los conocimientos científicos y técnicos en la investigación criminal². La criminalística emplea el método científico deductivo. De este modo, a partir de una verdad general se llega al conocimiento de una verdad particular. Para ello, la criminalística se basa en cuatro principios:

Principio de intercambio: Formulado por el investigador Locard, señala que en la comisión del delito el autor deja indicios de su parte y, a la vez, arrastra otros que provienen del lugar del hecho. En palabras de Rougmanac: "No hay malhechor que no deje atrás de él alguna huella aprovechable"¹.

Principio de correspondencia de características: Este principio hace posible establecer, después de un cuidadoso cotejo, que dos impresiones dactilares corresponden a la misma persona o que dos proyectiles fueron disparados por la misma arma¹⁴.

Principio de reconstrucción de fenómenos o hechos: Permite deducir, de los indicios recogidos, en la escena del hecho, de qué forma ocurrió éste¹⁴.

Principio de probabilidad: Permite deducir la probabilidad o imposibilidad de un fenómeno con base en el número de características verificadas durante el cotejo. Moreno González agrega "Es conveniente señalar de una vez que en criminalística, como en casi todas las disciplinas, nunca se alcanza la certeza absoluta" y refuerza su criterio con una expresión de Bertrand Russell: " Si un hombre te dice que posee la verdad exacta sobre algo, hay razón para creer que es un hombre equivocado"^{1,13}.

2.3.1. Deberes profesionales del perito

(Decálogo Pericial de L. Rafael González Moreno)¹.

- I. Ser consciente de las limitaciones de su capacidad científica.
- II. Ser metódico, claro y preciso en sus dictámenes.
- III. Mantener actualizados sus conocimientos técnicos y científicos.
- IV. Colaborar eficazmente con las autoridades en el esclarecimiento de la verdad.
- V. Dictaminar sobre cuestiones técnicas y científicas sin emitir opiniones de carácter legal.
- VI. Actuar con imparcialidad, acuciosidad, dedicación y prudencia.
- VII. Aplicar los métodos y las técnicas de la investigación científica en la búsqueda de la verdad.
- VIII. Fundar sus conclusiones sobre la verificación de los hechos.
- IX. Escuchar y ponderar ecuánimemente, con espíritu abierto, las objeciones metodológicas y técnicas que cuestionen sus dictámenes.
- X. Excusarse de dictaminar solo por razones técnicas, legales o éticas.

2.3.2. Criminalística de campo

La criminalística de campo es la disciplina que emplea diferentes métodos y técnicas con el fin de observar, fijar, proteger y conservar el lugar de los hechos. También, se encarga de la colección y embalaje de los índicos relacionados con los hechos que se investigan, para posteriormente realizar un examen minucioso.

En México, el criminalista de campo, conjuntamente con otros expertos forenses y la policía judicial, forma parte del equipo de trabajo que bajo las órdenes del Ministerio Público inicia las primeras investigaciones en la escena del crimen¹⁵.

Dada la evolución científica de la investigación criminal, debe darse mayor atención al lugar del hecho o del hallazgo para localizar, recuperar y documentar evidencias que, posteriormente, serán examinadas por peritos en los laboratorios forenses, ya que la habilidad del laboratorista para proporcionar interpretaciones científicas depende en gran medida de un trabajo eficiente del equipo investigador de campo, el cual tiene que estar bien adiestrado, coordinado y debidamente provisto de los implementos y utensilios necesarios para una recolección adecuada de los indicios y evidencias.

2.3.3. La criminalística de laboratorio

Se realiza en los laboratorios de criminalística donde se encuentran los instrumentos usados para el examen y análisis de los indicios, con fines de identificación. Utiliza todos los métodos y técnicas de laboratorio para el estudio, análisis e identificación de los indicios y evidencias encontrados en el lugar del hecho o del hallazgo. La criminalística de laboratorio tiene sus inicios en 1910 al fundarse en Francia el primer laboratorio forense por Edmond Locard. Desde entonces y hasta la fecha, han sido instalados en todo el mundo diferentes tipos de laboratorios con características y funciones muy especiales, los cuales dependen tanto de los recursos económicos del país como de los delitos que se investiguen. Se trata de la parte importante de la investigación, es la que ha permitido pasar de la época de las aproximaciones a la etapa de las precisiones¹⁵.

2.3.4. Indicios y evidencia

El término indicio se define como: "una señal que da a conocer lo oculto".

Desde el punto de vista forense es: "todo objeto o material, sin importar que tan grande o pequeño sea, que se encuentra relacionado con un presunto hecho delictivo, y cuyo estudio nos permitirá establecer si existió éste, así como la identidad de la víctima y/o victimario"¹⁶.

El Diario Oficial de la Federación establece que como **indicio o evidencia** se consideran las huellas, vestigios y demás elementos materiales del hecho delictuoso, que puedan encontrarse en el lugar de los hechos y/o lugar de hallazgo y que por sus características existe la probabilidad de que tenga alguna relación con la comisión del delito que se investiga¹⁷.

Algunos autores consideran a los indicios y a las evidencias como sinónimos; sin embargo, con estas definiciones se demuestra claramente que mientras los primeros son solamente una señal, sospecha o presunción, las segundas son la confirmación o la certeza; esto es, que una vez que se estudian los indicios que se hallan en el lugar del hecho puede confirmarse su valor como elemento de prueba y transformarse en evidencia¹⁵.

El término que más usa el FBI es el de evidencia, definiéndola como: aquella que está legalmente sometida al tribunal competente como medio de llegar a la verdad de cualquier alegato o hecho bajo investigación¹⁸, por lo tanto, evidencia es cualquier cosa que un sospechoso haya tomado, deje, o pueda estar de cualquier manera conectada con la escena del crimen o con el crimen mismo.

Existe una gran diversidad de indicios; por lo tanto, su estudio exige en rigor la concurrencia de especialistas muy diversos (químicos, médicos, biólogos, físicos, expertos en balística, etc.), por lo que se utiliza la expresión “ciencias forenses”¹⁵.

2.3.4.1. Clasificación de indicios

Con fines prácticos algunos investigadores se han ocupado de clasificar los indicios, por ejemplo:

- A) **Indicios determinantes:** son aquellos cuya naturaleza física no requiere de un análisis completo para su identificación, o bien que con un examen macroscópico se puede determinar su forma y naturaleza. Ejemplo, una ojiva de una bala o un casquillo usado.
- B) **Indicios indeterminantes:** son aquellos cuya naturaleza física precisa de un análisis completo para conocer su composición o estructura; consisten generalmente en sustancias naturales o de composición química. Ejemplo: levantamiento y embalaje de líquido rojizo localizado en el lugar de los hechos.
- C) **Indicios asociativos.** Los que corroboran y guardan relación directa con el hecho que se investiga.
- D) **Indicios no asociativos.** Se localizan en el lugar del hecho o del hallazgo, pueden estar o no relacionados íntimamente con el caso que se investiga.
- E) **Indicios microscópicos.** Son aquellos que por su naturaleza se requiere de algún instrumento óptico (lupas o microscopios) para su observación (pelos y fibras).

F) **Indicios trasladables.** Son aquellos que por su naturaleza, forma, volumen, peso o cualidades inherentes, se pueden sacar del lugar de investigación y se pueden preservar de forma adecuada para trasladarse al laboratorio para el estudio respectivo (armas, fibras).

G) **Indicios no trasladables.** Son aquellos que por su naturaleza, forma, volumen, peso o cualidades inherentes, no pueden moverse del lugar de la investigación ya que alterarían sus condiciones originales (huellas de calzado en lodo, impresiones latentes de huellas dactilares, etc.)¹⁹.

Por el momento de su producción pueden ser:

- Antecedentes. Los generados antes del hecho.
- Concomitantes. Los que se generan durante el hecho.
- Consecuentes. Los que se generan con posterioridad al hecho.

La idea de que el material sensible significativo (indicio) debe ser separado lo antes posible ya, que puede ser transferido y es necesario para completar el paradigma. De principio se separa el material y transfiere a donde pertenece para la generación de evidencias útiles, el proceso de identificación, clasificación ó individualización, asociación y reconstrucción describe la práctica de las ciencias forenses, iniciando con el reconocimiento de un detalle como evidencia.

2.3.5. Cadena de custodia

Por normatividad jurídica es necesario llevar correctamente el procedimiento de la cadena de custodia, la que tiene el propósito de garantizar la integridad, la conservación e inalterabilidad de elementos materiales de prueba, de entre los que se pueden mencionar algunos como documentos, muestras (orgánicas e inorgánicas), armas de fuego, proyectiles, vainillas o casquillos, armas blancas, estupefacientes y sus derivados²⁰.

De acuerdo al Diario Oficial de la Federación, la cadena de custodia se define como el procedimiento de control que se aplica al indicio o evidencia, material ya sea vestigio, huella, medio de comisión, objeto material o producto relacionado con el delito, desde la localización por parte de una autoridad, policía o Agente del Ministerio Público, hasta que la autoridad competente ordene su conclusión, según se trate de la averiguación previa o el proceso penal¹⁷.

La cadena de custodia, es el seguimiento que se da a la evidencia, con el objeto que no vaya a ser alterada, cambiada o perdida. Con ese fin los indicios deben ser etiquetados y la persona que lo recibe deberá entregar a cambio una constancia o cargo. Además la cadena de custodia supone que la evidencia se mantiene en un lugar seguro donde no tengan acceso personas no facultadas para ello.

2.3.5.1. Funciones de la cadena de custodia

Garantizar la autenticidad de los elementos materiales de prueba recolectados y examinados, asegurando que pertenecen al caso investigado, sin confusión, sin que sean adulterados o sustraídos, es desplegado por los funcionarios y personas bajo cuya responsabilidad se encuentran los elementos probatorios, iniciándose con la autoridad que inicialmente protege la escena del crimen, quienes los recaudan y finaliza con los diferentes funcionarios judiciales²¹. Implican que estos elementos de prueba se mantendrán en un lugar seguro y protegido, sin que puedan tener acceso a ellos personas no autorizadas, sino únicamente quienes tengan que tener contacto con ella por razón del cargo o puesto que ejerzan.

Se efectúa sobre elementos físicos y actas en las que se ha hecho constar la existencia de elementos materiales de prueba que han sido destruidos o que son difíciles de preservar.

Al momento de recargar los elementos materiales de prueba, se debe dejar constancia en el acta de la diligencia original, haciendo la descripción completa y detallada, registrando su naturaleza, lugar exacto de donde fue removido o tomado y el funcionario que lo obtiene.

Al requerirse un procedimiento técnico o científico, la recolección la debe efectuar personal calificado, capacitado o entrenado para estos efectos. En caso de no contarse con él, se realizará siguiendo estrictamente las reglas señaladas para seguridad personal, a fin de no destruir los elementos e impedir que se obtengan resultados contrarios o diferentes a la investigación.

2.3.5.2. Fundamentos legales de la cadena de custodia

El tratamiento de la cadena de custodia, en lo que respecta al cuidado, preservación, seguridad, envío y control de las evidencias e indicios, tiene su origen en el Código Procesal Penal (En el actual Proceso la cadena de custodia recupera protagonismo).

Al levantarse un objeto que se considere evidencia e indicio, desde el lugar de los hechos, se inicia el registro escrito de la cadena de custodia, por ello, en el formulario se deberá dejar constancia ininterrumpida de todos quienes han accedido a los objetos y muestras recogidas, principalmente de quienes han asumido la responsabilidad de la custodia.

Cuando las evidencia e indicio se encuentren en poder de algún organismo auxiliar al Ministerio Público (Servicio Médico Forense, Laboratorios de Criminalística u otros), éstos deben implementar medidas de custodia y protocolos de registro adecuados de todos quienes tengan acceso a la evidencia e indicio, deberán crear una Sección de Custodia Transitoria de evidencia e indicio ya sea para peritajes o revisión²².

2.3.5.3. Principios básicos que rigen la cadena de custodia.

Garantiza que las pruebas presentadas correspondan al hecho investigado, sin que dé lugar a confusión, adulteración ni sustracción alguna, conservando éstos su potencial probatorio. Toda persona, especialmente fiscales, Policías y Peritos que participen en el proceso de la cadena de custodia, deberán velar por la seguridad, integridad y preservación de dichos elementos.

Toda persona que reciba, genere o analice muestras o elementos de prueba, forma parte de la cadena de custodia.

La cadena de custodia se inicia en el mismo lugar de los hechos, con la persona que recolecta la evidencia e indicio. Los procedimientos de custodia deben aplicarse a todo elemento probatorio. Esta misma protección y vigilancia debe extenderse de manera idéntica sobre actas, formularios y oficios que acompañan al elemento.

Es responsabilidad de toda persona que participa en el proceso de cadena de custodia, conocer los procedimientos generales y específicos establecidos para tal fin.

Cada persona que participa en la cadena de custodia, es responsable del control y registro de su actuación directa en el proceso.

Todo elemento físico probatorio tendrá un registro de cadena de custodia, el cual acompañará al elemento de prueba a través de su curso judicial. Por tanto, toda transferencia de custodia quedará registrada en el **formulario indicando fecha, hora, nombre y firma de quien entrega y de quien recibe.**

Toda evidencia e indicio inserta en el proceso de cadena de custodia, deberá llegar debidamente embalada, rotulada y sellada.

En los formularios de cadena de custodia, deberán aparecer en forma legible los nombres y apellidos, además del grado, dotación y firma de la persona que recibe y entrega.

En el formulario de cadena de custodia, no se admiten borrones, enmiendas, espacios o líneas en blanco, tintas de diferente color o interlineaciones (palabras o signos entre líneas).

2.3.5.4. Protocolo cadena de custodia

Para construir el Protocolo de cadena de custodia, necesariamente debemos basarnos en el Protocolo del Lugar de los Hechos, debido a que se desprende de éste y forma parte de la estructura procedimental, que a continuación se señala:

1. Recepción de la noticia del lugar de los hechos

Este corresponde al inicio del protocolo de trabajo del lugar de los hechos, pero es también el inicio conceptual de la cadena de custodia, por cuanto se subentiende que existen evidencias e indicios que fundamentan haber alertado a los servicios encargados de administrar justicia, a raíz de algún ilícito, cuyo ilícito se acredita con las mismas evidencias e indicios, que dan origen al llamado de la noticia.

2. Directrices al llegar

El Grupo de trabajo, debe vestir con: guantes, traje, cubre calzado, cubre pelo y cubre boca. Uno de los puntos que corresponde a las directrices que se deben considerar al llegar con respecto a la cadena de custodia, es la prioridad en el resguardo de evidencias e indicios, por efectos climáticos, lluvia, vientos, polvo, para evitar posibles alteraciones involuntarias, de terceros o voluntarias.

Por lo anterior y dependiendo del tipo de lugar de los hechos, el entorno, cantidad de gente, situaciones climáticas y de seguridad. Se puede excepcionalmente levantar una evidencia e indicio para cambiarla de ubicación, debido a que se corre el riesgo que afecte la integridad de la evidencia e indicio, que se adultere o deteriore.

Se debe registrar la hora de llegada en el formato de descripción del lugar de los hechos; sirve para que el agente de Policía detalle todos los elementos de prueba o indicios que encuentre en el lugar al momento de su arribo, sin tocar o manipular. Este formato tiene los siguientes rubros:

- a. Fecha, lugar y hora.
- b. Número de carpeta de investigación.
- c. Ubicación del lugar.

- d. Descripción del lugar.
- e. Croquis del lugar.
- f. Objetos encontrados en el lugar.
- g. Personas encontradas en el lugar.
- h. Fuentes de peligro eliminadas.
- i. Técnicas de acordonamiento del lugar.
- j. Nombre de quien realiza la diligencia, cargo y adscripción.
- k. Firma de quien describió el lugar.
- l. Observaciones y anexos.

En definitiva de todo lo actuado en esta fase, se deberá dejar constancia de manera detallada en el informe que se rinda al Ministerio Público, en este acto se levanta el formulario de listado de los intervinientes en el lugar de los hechos el cual contiene los siguientes datos:

- a. Fecha, lugar y hora.
- b. Número de carpeta de investigación.
- c. Responsable del lugar.
- d. Técnicas para el manejo del lugar.
- e. Ubicación de indicios en el lugar.
- f. Enumeración de indicios en el lugar, con su respectivo eslabón.

3. Primera inspección general

El Investigador efectuará las primeras notas como registro de temperatura, humedad, tránsito vehicular, peatonal.

- Ingresa al lugar de los hechos, sin alterar, tocar, ni mover absolutamente nada, caminado por posibles lugares en donde no haya evidencia e indicio que alterar.
- En esta primera inspección general, se deben observar los lugares en donde se encuentran las evidencias e indicios, con la finalidad de organizar el trabajo y priorizar levantamiento de evidencia e indicio.

- Verifica necesidad de iluminación.
- Necesidad de aumentar el área de protección del lugar de los hechos.
- Determina el tipo de rastreo de evidencias e indicios (espiral, lineal, cuadrículada.).
- Necesidad de otros especialistas.

Excepción a la Regla.

Dependiendo del tipo de lugar de los hechos, el entorno, cantidad de gente, situaciones climáticas y de seguridad. Se puede excepcionalmente levantar una evidencia e indicio para cambiarla de ubicación, por razones antes expuesta, debido a que se corre el riesgo de la integridad de la evidencia e indicio o que se adultere o deteriore.

El Formato de Preservación del Lugar de los hechos sirve para identificar objetos o personas que pudieran modificar la escena si no se toman las previsiones necesarias. El responsable del lugar podrá tomar las decisiones pertinentes para realizar adecuadamente el levantamiento de las evidencias e indicios. Este formato debe tener los siguientes elementos:

- a. Fecha, lugar y hora.
- b. Número de carpeta de investigación.
- c. Causas por las que se debe preservar el lugar.
- d. Personas que deben moverse en el lugar.
- e. Objetos que deban moverse para preservar el lugar.
- f. Requerimientos técnicos-operativos para preservar el lugar.
- g. Observaciones y anexos.

4. Reconocimiento y numeración de la evidencia e indicio

Esto implica reconocer cuáles serán las evidencias e indicios que se levantarán y cuáles se descartarán, esto dependerá de la experiencia y práctica del agente investigador.

La numeración de la evidencia e indicio estará a cargo de un solo agente investigador, debe mantener, en lo posible, un orden secuencial dependiendo del tipo de rastreo que utilizaron para la revisión del lugar de los hechos.

El tipo de numeración, dependerá el terreno, ubicación de la evidencia e indicio y tipo de evidencia e indicio.

Evidencia e indicio en altura (muros, techo otros) usar autoadhesivos.

Evidencia e indicio en terrenos planos y despejados, usar numeradores.

Evidencia e indicio en terrenos con malezas o escombros o similares, usar banderillas.

La numeración debe ser a un costado de la evidencia e indicio no sobre ella.

La numeración debe ser por unidad de evidencia e indicio, no por grupo, excepto cuando corresponde a manchas de proyección o similar.

Una vez identificada y numerada la evidencia e indicio, no debe ser cambiada la numeración ni eliminada. Se debe mantener hasta el final.

5. Fijación fotográfica y/ o de video

Teniendo en consideración que en el protocolo de trabajo del lugar de los hechos, incluye gran cantidad de detalles de esta etapa, solamente se hará referencia al punto relacionado con la cadena de custodia, que las evidencias e indicios deben fotografiarse con la numeración y con reglillas; así mismo, disponiendo de videocámara, la utilización de esta herramienta tecnológica, permite conocer el lugar de los hechos en forma general, obteniendo mayores antecedentes respecto a la distribución de las evidencias e indicios encontrados y su ubicación en un contexto global, complementando el trabajo de la fijación fotográfica y planimétrica²¹.

8. Levantamiento de evidencia e indicio

Al momento de levantar la evidencia e indicio, ésta, debe tener el mínimo de manipulación. Complete el registro de levantamiento de evidencia e indicio para cada especie.

Verificar que el número otorgado por la evidencia e indicio sea el mismo que lleve el registro de la evidencia e indicio.

Siempre usar guantes.

El levantamiento de la evidencia e indicio va a depender de cada caso en concreto, pero existen algunas generalidades.

Las huellas digitales, se levantarán previo procedimiento de reactivos, con cinta adhesiva y se fijarán en vidrio.

Sangre seca con torundas o hisopos humedecidos con suero fisiológico, una vez que se impregnen se dejará secar y guardará en tubo de ensayo o sobres.

Sangre líquida, se impregnará con una torunda o hisopo, se deja secar y se guarda en tubo de ensayo o sobres.

Podemos decir que en general, toda evidencia e indicio biológico puede ser recolectada como si se tratara de una muestra de sangre, ya sea que se encuentre en forma líquida o como mancha. Por esta razón, para recolectar una muestra biológica, adoptaremos el mismo procedimiento que podemos utilizar para recoger una muestra de sangre, dependiendo del tipo de soporte y del estado en que se encuentre.

Todas las especies o muestras recogidas en el lugar de los hechos se deben dejar secar antes de embalarlas. El secado se debe hacer al ambiente, no exponiendo la muestra o especie directamente al sol. No se debe aplicar calor ni mantener la especie cerca de fuentes calóricas. Si se requiere, se puede aplicar una corriente de aire frío (ventilador).

Ropas impregnadas con sangre se dejan secar y se guardan en bolsas de papel. En caso de huellas de pisadas humanas descalzas, por ejemplo sobre talco y que no se puedan revelar, simplemente se fijaran fotográficamente.

Huellas de neumático, pisadas en barro etc., se levantarán con molde de cal o yeso.

Huellas de herramientas, dependiendo del soporte se levantará completo, como por ejemplo candado, cadenas etc., y en soporte no transportable solo fijar.

Pelos, fibras, se levantarán solo con la mano enguantada y pinzas, se guardará en bolsas.

Armas y elementos balísticos, se levantarán con la mano enguantada y se guardarán en bolsas.

Cuchillo con la mano enguantada y se guardará en cajas afianzando en su empuñadura, impedir manipulación de la hoja.

Polvos metálicos, cal, cemento, arena, lodo, levantar, dependiendo del caso con una escobilla o pincel sobre papel, En caso de raspar, sutilmente sin comprometer otros elementos.

Evidencia e indicio orgánicos en frascos y a la brevedad refrigerar.

En este mismo evento se registra el Formato de cadena de custodia, enumerar los indicios encontrados en el lugar, el traslado correspondiente, y la identificación de personas que han de manipular ese objeto para realizar los estudios que se estimen pertinentes. Se deben registrar los siguientes requisitos:

- a. Fecha, lugar y hora.
- b. Número de carpeta de investigación.
- c. Responsables: del lugar, del levantamiento y del traslado.
- d. Descripción del indicio: número de indicio, cantidad, tipo de indicio, ubicación del indicio, y exámenes a solicitar.
- e. Listado de entrega-recepción: donde en cada acto debe señalarse: nombre, número de gafete, área de adscripción y firma de quien entrega y quien recibe, así como la fecha y la hora de esa entrega-recepción.
- f. Número de folio de control interno en el lugar de los hechos.
- g. Observaciones y anexos.

8. Embalaje y sello

En forma simultánea al evento anterior se embala la especie en contenedores especiales según corresponda a elementos inorgánicos, contaminados, orgánicos, líquidos, explosivos.

Su adecuado embalaje minimiza su deterioro.

Embalaje: dependerá de la evidencia e indicio: como una forma de preservar adecuadamente las evidencias e indicios, se preferirá embalarlas en sobres de papel o cajas de cartón. A menos que sea inevitable, se podrán utilizar bolsas plásticas.

Considere que las bolsas plásticas conservan la humedad del ambiente en su interior, lo que contribuye a la descomposición de la materia orgánica.

Por lo tanto, toda evidencia e indicio debe ser secada al aire antes de ser embalada.

Cada especie debe ser embalada por separado, no se debe embalar más de una especie en un paquete. Se podrán incluir en el mismo paquete o contenedor, evidencias e indicios que se encuentren debidamente tratadas (secas) y separadas, entre ellas, de tal forma que impida la contaminación cruzada.

9. Rotulado

Esta operación se realiza sobre el contenedor de la evidencia e indicio, de modo de identificarla en forma inequívoca. La rotulación debe efectuarse después del embalaje, a fin de evitar errores por confusión. Las muestras remitidas al laboratorio, deben llevar etiquetas con la mayor cantidad de información posible que tenga relación con la evidencia e indicio o con el hecho investigado, considerando como mínimo los siguientes datos, que deberán quedar registrados en el Formato de Etiquetamientos como se muestra en la figura 5.

- Fecha, lugar y hora.
- Número de carpeta.
- Número de evidencia e indicio.
- Descripción de las evidencias e indicios.
- Responsable del levantamiento.
- Folio de control Interno

10.Observación final

Además, de todos los antecedentes que se deben considerar en el protocolo de trabajo del lugar de los hechos y en el protocolo de cadena de custodia, se debe verificar que la totalidad de las evidencias e indicios recogidas estén al interior de los vehículos para su traslado²⁰.

3552
S.J. 4
POLICIA NACIONAL DEL PERU
EVIDENCIA
REF. C/...
SITO DE LOS...
CONTENIDO
DESCRIPCION
FECHA Y HORA DE RECCO
EXAMEN SOLICITADO
FQ BAL GRAS OTROS
RECIBIDO POR :
ENTREGADO POR :
FECHA Y HORA :
TIPO DE HECHO :
CADENA DE CUSTODIA
RECIBIDO POR DE
DIA Hora
1552

Figura 5. Rotulación de evidencia en la cadena de custodia²⁰

11. Traslado a la bodega de evidencias

Finaliza responsabilidad del policía que levantó la evidencia e indicio y queda bajo el control del personal de la Oficina Transitoria de evidencia e indicio.

Las evidencias e indicios deben ser llevadas al laboratorio lo más rápido posible y en condiciones de máxima seguridad, que garanticen la integridad del embalaje y la preservación de las muestras. Los envases con sangre fresca, deberán transportarse idealmente en cámara refrigerada o recipiente con hielo.

Como norma general, el traslado se debe hacer a baja temperatura y evitando la exposición al sol y otras fuentes de calor. Como norma general para la recolección y traslado de las evidencias e indicios¹⁷, considere siempre lo siguiente:

Todo soporte transportable debe ser trasladado a la oficina de custodia de evidencia e indicio.

Al examinar las prendas se debe poner un papel bajo ellas, a fin de evitar pérdida de alguna evidencia e indicio, tales como pelos, fibras etc.

Cada envase debe ser rotulado con el máximo de datos, interpretando la expresión "Y todo lo que sea de interés para la investigación".

La creatividad es fundamental en la investigación, por lo que aplicando los fundamentos básicos, se deben utilizar los medios que nos entregan las circunstancias de momento.

12. Recepción bodega de evidencias

La entrega de evidencia e indicio, es por especie.

Se verifica la integridad del contenedor, el sellado, rótulo y formulario respectivo.

Se deja constancia de las evidencias e indicios orgánicos para su refrigeración, si el caso lo necesita.

Informar de los contenedores con material peligroso, como explosivo, armas de fuego o armas cortantes.

Se deja constancia de la fecha y hora de entrega, en el formulario de cadena de custodia y en los registros internos de la oficina de custodia.

13. Peritajes

La evidencia e indicio queda disponible para el proceso de peritaje.

Después de la pericia, las evidencias e indicios, se deben mantener sellada y rotuladas, dejándose constancias en los formularios respectivos.

En los casos que parte de las evidencias e indicios puedan ser usadas en el examen, y por ende alterar su integridad, como ocurre en los casos de peritajes químicos, se debe dejar constancia.

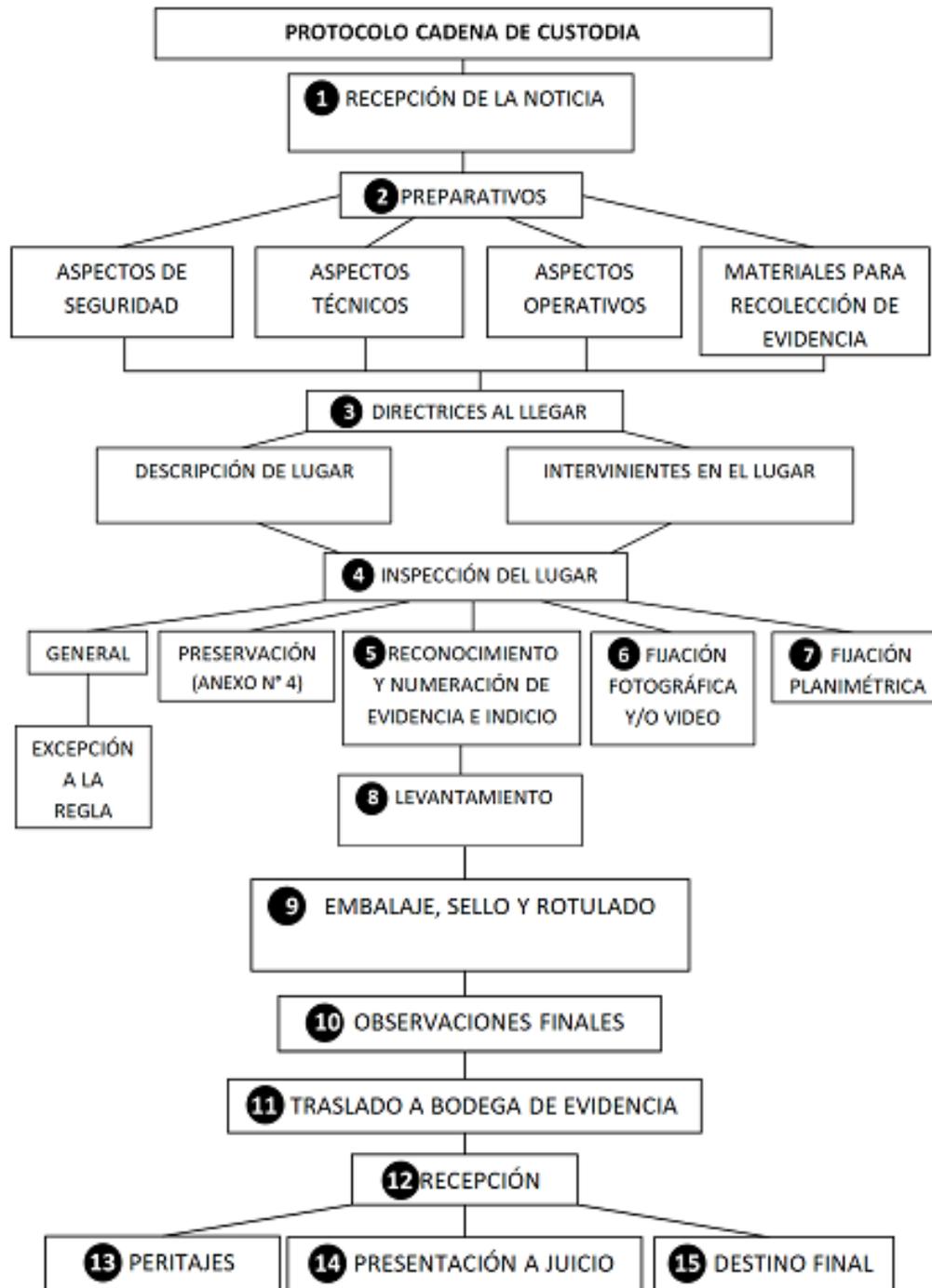
14. Presentación en juicios

El eslabón más importante de la cadena, la evidencia e indicio debe presentarse, íntegra, dando muestras de confiabilidad y veracidad, producto de todas las medidas adoptadas desde su reconocimiento.

15. Destino final de la evidencia e indicio

A cargo del Ministerio Público está la responsabilidad de mantenerla bajo su custodia. (Ante la eventualidad que se puede reabrir una nueva investigación Judicial y ésta, debe estar íntegra, manteniéndose inalterable), toda la información se resume en el diagrama 1.

Diagrama 1. Protocolo de cadena de custodia



3. PROBLEMAS DE INVESTIGACIÓN

Justificación

El presente trabajo pretende ser una herramienta útil, de tipo monográfico, en el cual se apoyen diferentes profesionales relacionados con el esclarecimiento de un presunto hecho delictuoso como puede ser los: criminalistas de campo, hematólogos forenses, etc. Este documento recopila la información más actual de manera conjunta y ordenada para llevar a cabo el levantamiento, embalaje y cuidados para la preservación de las manchas de sangre en lugar de los hechos, con lo cual se facilita la tarea de estos profesionales relacionados de alguna manera con procuración de justicia.

El examen de la sangre en la actualidad es muy importante en la instrucción criminal, que con suma frecuencia, el juez aguarda al dictamen pericial correspondiente para fundamentar su hipótesis o corroborar su pronóstico. Por esta razón en la mayoría de los delitos contra personas, por asesinato u homicidio, el examen de rastros sanguíneos ocupa un lugar preferencial en las acciones y es considerado como uno de los datos más importantes, decisivos y probatorios que se pueden encontrar y recuperar de una escena del crimen.

4. OBJETIVOS

Recopilar la información más actual para llevar a cabo el levantamiento, embalaje y preservación de muestras de sangre en lugar de los hechos.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Reafirmar la importancia del estudio de laboratorio de las manchas hemáticas con fines forense.
- Describir cómo se lleva a cabo el levantamiento y embalaje de este tipo de indicios.
- Describir las diferentes técnicas para la identificación y preservación de la sangre, aportando su fundamento y aplicación.
- Promover el desarrollo científico y académico de la química legal y/o forense con el fin de colaborar con una mejor administración de justicia.

5. METODOLOGÍA

Mediante la visita a bibliotecas de universidades e institutos, realizar la consulta bibliográfica del fundamento de las técnicas de recolección y preservación de manchas de sangre, así como embalaje. Simultáneamente, se seleccionará la información más relevante de acuerdo a los requerimientos de cada técnica, tomando en cuenta la importancia e innovación en las ciencias forenses. Para la identificación y preservación de una mancha de sangre, redactando de manera detallada y clara los procedimientos y aplicaciones de esta investigación, enriqueciendo la información con los cuadros, imágenes que amerita cada tema abordado, estructurando de manera ordenada y coherente la información, logrando realizar un trabajo descriptivo sobre el tema en cuestión de acuerdo a las correcciones sugeridas.

6. RESULTADOS

6.1. Importancia criminalística de la sangre

Las manchas de sangre son un indicio frecuentemente encontrado en cualquier tipo de hecho delictuoso. Las mismas, se consideran de interés a la hora de realizar estudios de aspectos físicos, químicos y serológicos los cuales establecen lo siguiente:

- a) Participación de personas en el acto criminal.
- b) Determinar mediante un análisis toxicológico las causas de la muerte.
- c) Data de una mancha de sangre.
- d) La mecánica de producción de las heridas.
- e) Determinar si se trata de una muerte por suicidio, homicidio o muerte natural, etc. entre otros elementos importantes para una investigación.

Conocer el tiempo transcurrido desde la aparición o impregnación de una mácula sanguínea en la escena del hecho hasta el hallazgo de la misma, es un dato de suma importancia, ya que teniendo en cuenta esta información se podría establecer la data de un suceso y así reconstruir históricamente el mismo.

Lo expuesto, ayuda a los profesionales en la materia, a la hora de elaborar una pericia, juntamente con otros indicios vinculados al hecho y de esta manera se realiza un aporte fundamental a la justicia, con lo cual se puede esclarecer un hecho delictuoso²³.

La investigación científica de sangre en México, ha tenido gran importancia debido al gran número de delitos en diferentes modalidades, estas investigaciones son un posible componente para la solución de casos criminales.

6.2. La sangre y el lugar del hecho

La sangre líquida tiene más valor que la sangre seca porque más pruebas pueden ser realizadas. Por ejemplo, el contenido del alcohol y de la droga se puede determinar de sangre líquida solamente. La sangre comienza a secarse después de 3-5 minutos de exposición al aire²⁴. Mientras que se seca, cambia de color hacia marrón y negro debido a la transformación de la hemoglobina en hematina por acción del oxígeno del aire.

La sangre en la escena de crimen puede estar bajo la forma de laguna hemática, gotas, borrones de transferencia, o cortezas. Las lagunas de sangre tienen obviamente más valor, evidente que en la obtención de una muestra que de una gota.

Las gotas y manchas de sangre pueden proporcionar información de la altura, dirección, fuerza y el ángulo de donde salió²⁵.

Toda mancha de sangre descubierta debe ser protegida de la contaminación, humedad y temperatura. En el caso de telas oscuras como paños, la mancha al difundirse en el tejido, puede presentar diferentes tonalidades y llegar el caso de confundirse con el material de soporte y pasar desapercibida, al realizar el examen macroscópico.

Técnicamente se puede decir que solo se puede producir una “mancha” cuando la sangre cae en una superficie absorbente donde la sangre queda impregnada. Cuando la sangre cae en una superficie no absorbente no se habla de una mancha sino de una “costra” y, aunque se suelen hacer generalizaciones al respecto es importante tener presente este concepto²⁵.

Además de ellos debemos entender que la forma y la tonalidad de una mancha dependen del medio de soporte donde ésta se encuentre. Debemos entender por medio de soporte el lugar donde una mancha queda depositada.

6.2.1. Qué observar de la sangre

Los siguientes cinco puntos son los aspectos más importantes que deben tomarse en cuenta a la hora de valorar manchas de sangre en una escena de crimen.

- La ubicación de las manchas de sangre.
- Las formas de las manchas.
- Su dirección.
- Su tamaño.
- Su superficie de impacto.

Para poder determinar lo anterior, es recomendable además de cualquier anotación por escrito que se pueda hacer, tomar una fotografía de cada mancha de sangre utilizando un referente métrico que permita ubicar a simple vista el tamaño de una mancha como se muestra en la figura 6. Todo esto para construir una primera hipótesis sobre un hecho criminal el cual se corroborará o modificará con base a la recolección del resto de la evidencia.



Figura 6. Se muestra la imagen de una prenda de mezclilla con una serie de manchas de sangre con un referente métrico para guardar las proporciones²⁵.

6.2.2. Las manchas sanguíneas

Constituyen la base del estudio de la hematología forense, estudia su mecanismo de producción, su forma, extensión, situación, tamaño, color, aspecto, cantidad y orientación¹³. La hematología forense puede ser:

- Reconstructora.
- Identificadora.

6.2.3. *Hematología reconstructora*

Esta ciencia determina e interpreta el mecanismo de producción de las imágenes (manchas de sangre), mediante un estudio meticuloso se podrá obtener información precisa de la forma como se produjeron los hechos. Se podrá determinar posición de la víctima y del agresor, los movimientos realizados en el sitio de suceso, características del traumatismo, violencia empleada, intensidad del traumatismo, arma usada, movimientos ejecutados con ella, incluso señalar o descartar al autor del delito²⁶.

La evidencia de sangre es común en los delitos violentos como el asesinato, homicidio, mutilación y agresión, entre otros. Generalmente, se encuentra en las armas utilizadas, objetos e instrumentos, cristales rotos, ropa de la víctima y el sospechoso, superficies lisas o porosas, etc.

La muestra debe tomarse líquida o sólida o en forma de manchas secas o unidas a otras partículas. Su color puede variar dependiendo si es reciente o es antigua como se observa en la figura 7, Se debe tomar en consideración que también se descompone.

Al buscar evidencia de sangre se debe tener en mente las siguientes interrogantes:

- ¿Es sangre?
- ¿Es de humano o animal?
- ¿Cuál es la edad de la mancha?
- ¿De qué parte del cuerpo es?



Figura 7. Diferencia de color entre una mancha de sangre reciente y una antigua²⁶.

El investigador forense debe poder identificar los patrones que establecen las manchas. Estos son el resultado de la transferencia de la sangre líquida, cuando ésta entra en contacto con una superficie humada o mojada. El estudio de los patrones incluye:

1. Localización de la mancha y descripción de los patrones.
2. Cómo se crearon las manchas.
3. Dirección en que viajaron las gotas.
4. Origen.
5. Objeto utilizado durante el ataque.
6. Cantidad de heridas.
7. Presencia del sospechoso en la escena.
8. Posición de la víctima, el sospechoso y los objetos durante la comisión del delito.
9. La secuencia de los eventos.

Las manchas de sangre se clasifican en tres grupos: pasiva, proyectadas y transferidas¹⁴.

I. Pasiva

Se crea cuando la fuerza que la produce actúa sobre su gravedad. Puede ser un patrón producido por goteo o flujo.

Las Manchas de sangre Pasivas pueden ser:

- a) Manchas de sangre por goteo de altura: Se produce al caer la gota de sangre desde la fuente productora hasta el soporte, impulsada por la fuerza de gravedad. La imagen producida tomará caracteres especiales de acuerdo a la altura, al desplazamiento y detenciones del herido y a la inclinación del soporte. A medida que la fuente productora se va alejando del soporte, la forma de la gota sufre variaciones progresivas en su contorno; de muy poca altura el contorno es regular; a medida que se aleja, el contorno se va haciendo irregular, luego presenta salientes en forma de rayos y, posteriormente, se aprecia rodeada de gotas secundarias. El desplazamiento del herido produce un contorno especial que se acentúa con la velocidad: la gota aparece de forma ovalada y con digitaciones (pata de oso) que se acentúan transformándose en proyección como se muestra en la figura 8.



Figura 8. Manchas de sangre por goteo²⁷.

- b) Manchas de sangre por escurrimiento: la sangre se desliza por el soporte impermeable, desde la fuente productora (herida). Cuando el desplazamiento se hace sobre un soporte inclinado se forma el escurrimiento; cuando el soporte es horizontal o presenta depresiones se forman charcos figura 9. El soporte puede estar constituido por el cuerpo, suelo o piso, murallas, ropas, etc. Tienen forma charcos; se presentan generalmente en el lugar donde el cuerpo ha perdido mayor cantidad de volumen sanguíneo.



Figura 9. Manchas de sangre por escurrimiento²⁷.

II. Proyectadas

Las manchas que son creadas cuando sale la sangre expuesta por un objeto en acción o una fuerza mayor que la fuerza de gravedad. El tamaño, la figura y el número que resulta de la mancha va a depender del tipo de fuerza que se utilice para hacer brotar la sangre.

Las Manchas de sangre proyectadas pueden ser:

- a) Manchas de sangre por proyección: Se producen cuando la sangre es proyectada en forma más o menos violenta sobre el soporte. Si la mancha de sangre proyectada al soporte se presenta en forma de imágenes aisladas y de disposición irregular, constituyen las salpicaduras, distinguiéndose en ellas salpicaduras gruesas y finas figura 10. En general, las salpicaduras gruesas corresponden a la contusión repetida sobre una superficie sangrante. Las salpicaduras finas se observan generalmente en la mano del suicida que se dispara sobre la sien. La rociadura se produce cuando la fuente productora se desplaza linealmente frente al soporte, por ejemplo: herida arterial y movilización de segmentos corporales o armas ensangrentadas.



Figura 10. Manchas de sangre sobre muros o paredes originadas por salpicaduras²⁷.

Velocidad: El impacto de baja velocidad es afectada por la fuerza de gravedad. Su caída es de forma horizontal y puede producir goteo sobre sangre figura 11.

El impacto a velocidad moderada puede ser producido por un objeto contuso o punzante. Pueden producir flujo o charco arterial. Cuando la arteria es lesionada la sangre sale disparada debido a la fuerza de gravedad.

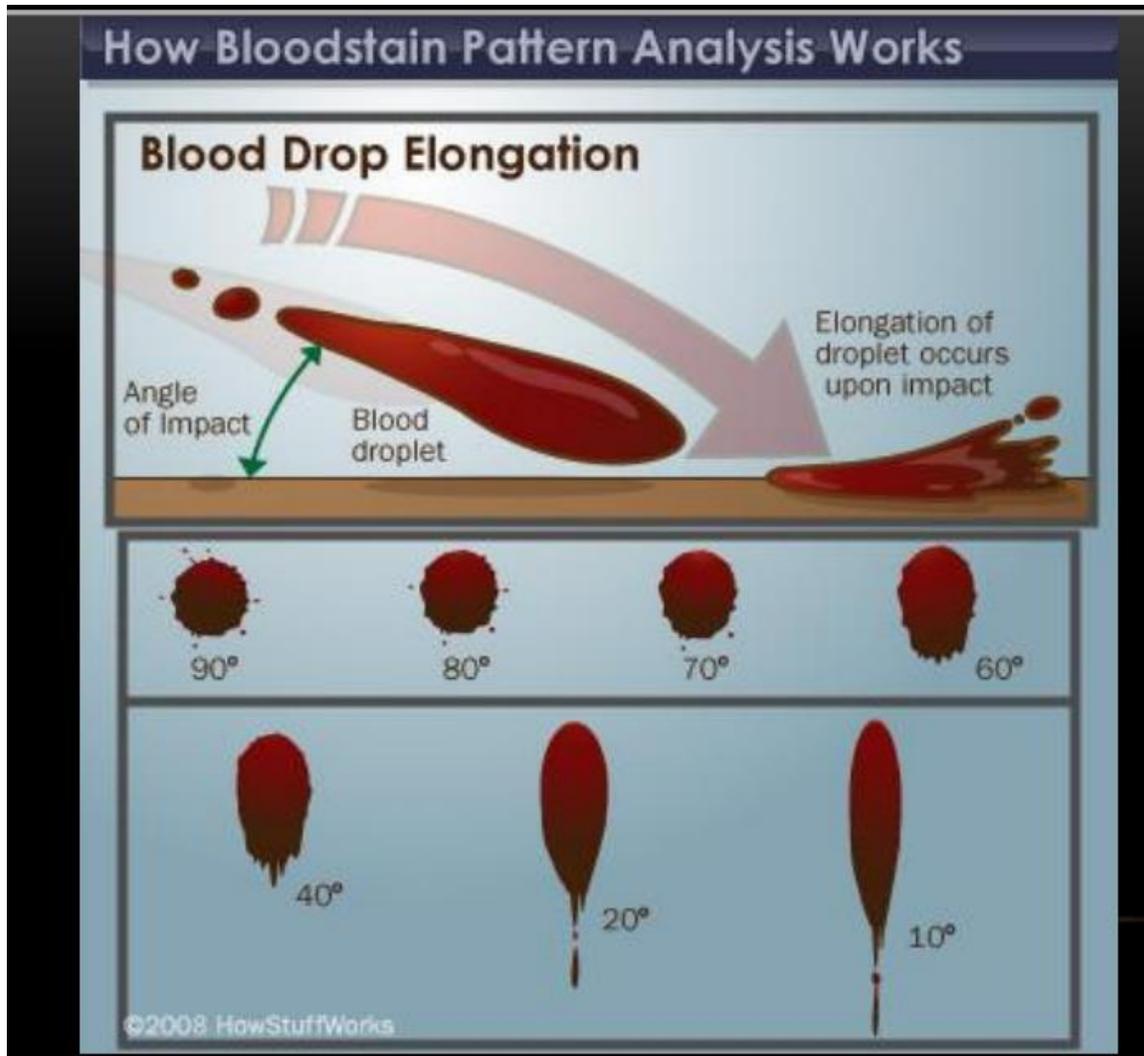


Figura 11. Velocidad de la gota de sangre²⁷.

El impacto de alta velocidad puede ser producido por un arma de fuego o explosivos²⁸. Es importante que el investigador reconozca que la sangre arterial es de color rojo y una vez lesionada una arteria la sangre se proyecta con fuerza, originando huellas dinámicas figura12.



Figura 12. Manchas de sangre proyectadas por armas de fuego²⁷.

III. Transferidas

Se produce cuando un objeto con sangre entra en contacto con la superficie de otro que no tiene sangre. Lo anterior no describe la velocidad de las gotas de sangre cuando viajan por el aire. Solo describe la cantidad de energía necesaria para crear las manchas.

Las Manchas de sangre trasferidas pueden ser:

- a) Manchas de sangre por contacto: Se producen por el contacto directo de la fuente productora y el soporte, el contacto puede ser simple, por ejemplo manchas de sangre de las ropas que están en contacto directo con la herida. El contacto puede ser por limpiamiento figura 13, ej.: al proceder a la limpieza de manos, armas, etc., las manchas aparecen en los objetos utilizados para ello (papeles, paños, telas, etc.).



Figura 13. Manchas de sangre por contacto²⁷.

b) Las manchas de sangre por arrastre se producen cuando la víctima se arrastra o es arrastrada, figura 14.



Figura 14. Manchas de sangre por arrastre²⁷.

c) Manchas de sangre por limpiamiento: Se produce cuando hay tentativa de lavado o se observa el enjuagado de un soporte, figura 15.



Figura 15. Manchas de sangre por limpiamiento, usado luminol y luz ultravioleta²⁷.

d) Manchas de sangre por impregnación: Se produce cuando la mancha de sangre traspasa la textura del soporte por ejemplo en casos de violación figura 16.



Figura 16. Manchas de sangre por impregnación²⁷.

Las investigaciones analíticas de la mancha de sangre comprenden^{30,31} .:

- Diagnóstico genérico.
- Diagnóstico específico.
- Diagnóstico individual.
- Diagnóstico de sexo del individuo.
- Data de una mancha de sangre.

a. Diagnóstico genérico

- Pruebas de orientación: son de poca especificidad y gran sensibilidad como por ejemplo la evidencia de peroxidasas sanguíneas
- Pruebas de certeza: Son técnicas microscópicas (investigación directa e investigación de elementos formes tras preparación previa).Técnicas microquímicas o cristalográficas (cristales de hemocromógeno).Técnicas espectroscópicas (tienen por objeto obtener espectro de hemoglobina). Técnicas cromatográficas que aprovechan movilidad de la hemoglobina

b. Diagnóstico específico

- Elementos formes.
- Hemoglobina.
- Suero y proteínas constitutivas.
- Determinaciones de antígenos de superficie.
- Primero electroforesis y luego doble difusión.
- Inmunoelectroforesis.

c. Diagnóstico individual

Son métodos basados en la investigación de grupos plasmáticos que son: grupos plasmáticos no inmunológicos (haptoglobinas) y grupos plasmáticos inmunológicos (ligados a IgG) Investigación de grupos enzimáticos eritrocitarios como la fosfatasa ácida.

6.3. Hematología identificadora

Permite tener una orientación y certeza, saber de qué especie es, si es de animal o humano, el grupo sanguíneo al que pertenece e incluso de que región corporal procede. Esta parte de la hematología forense es muy importante sobre todo en casos de criminalística pues se requiere de mucha seguridad al momento de la identificación⁸.

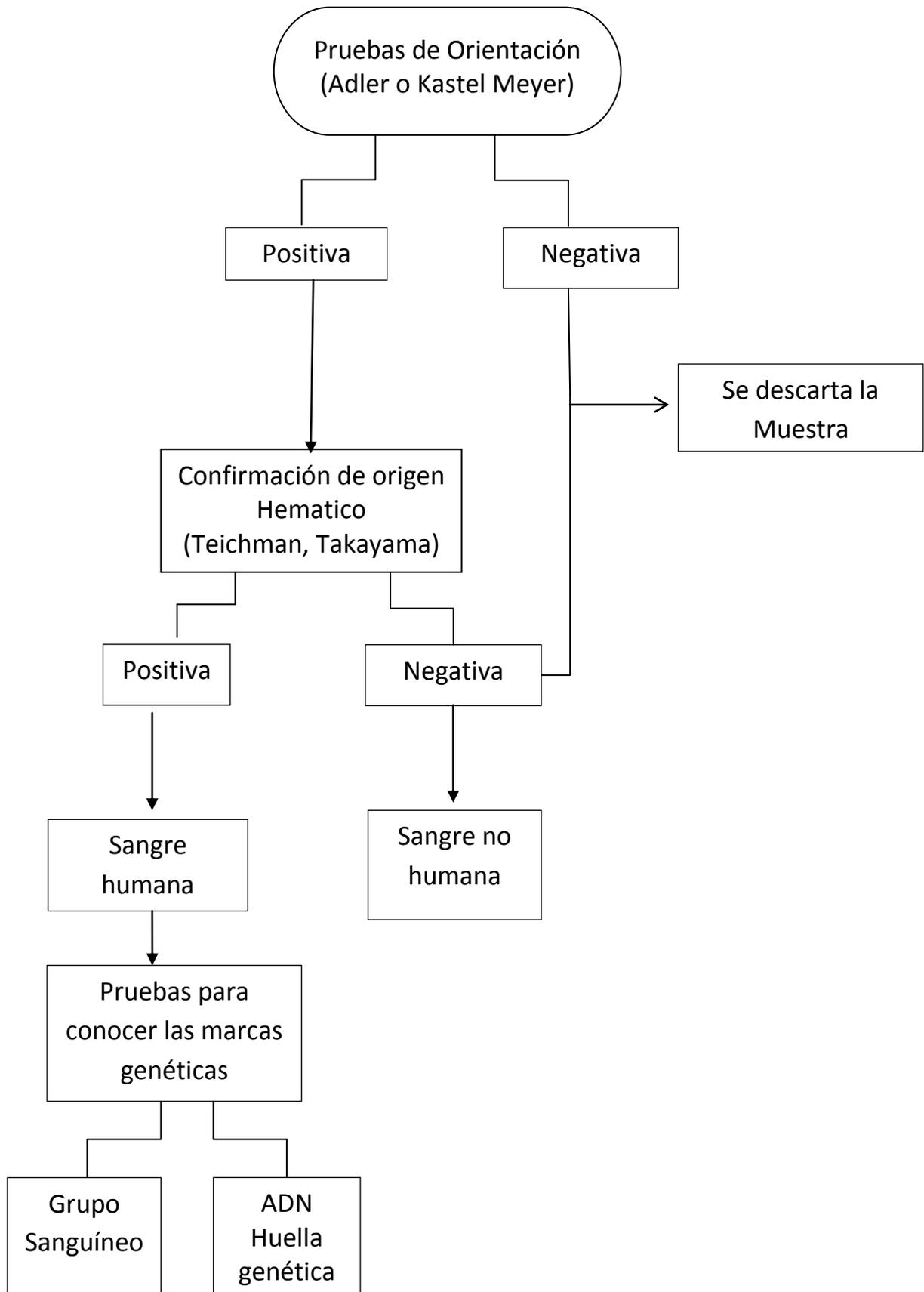
Las manchas que se sospecha pudieran ser de sangre, hay que proceder de la siguiente manera:

El paso inicial es llevar a cabo pruebas de orientación (Adler o Kastel Meyer, entre otras), si los resultados son negativos, cabe de inmediato descartar que las manchas sean de sangre; si son positivos, se establece la posibilidad de que lo sean efectivamente.

Establecida la posibilidad, se procede a confirmar su origen hemático, aplicando técnicas con un alto grado de especificidad, a saber: microcristalográficas (Teichman, Takayama), microespectroscópicas, microespectrométricas, cromatográficas: en papel y capa fina¹³.

Ante la certeza de que las manchas son de sangre, se procede a determinar si son humanas o de otra especie animal. Para ello se recurre a las reacciones serológicas, a saber: Suero precipitinas (Uhlenhuth, electroforesis) o reacción de Coombs^{8,19}. Todo lo anterior se resume en el diagrama 2.

Diagrama 2. Análisis presuntivo de una mancha de sangre



Una vez establecido su origen humano, hay que determinar sus características individuales, también denominadas "marcas genéticas", mediante los diversos métodos que hoy son asequibles basados en la investigación de aglutinógenos: ABO (A,B,O), y Rh. así como pruebas de ADN (ácido desoxirribonucleico) o "huella genética" que sí permite la individualización¹⁸.

En el caso de manchas de sangre secas, su tipificación (ABO) se puede llevar a cabo mediante la técnica de Lattes, detectando los anticuerpos del suero; o detectando los antígenos de los glóbulos rojos destruidos, a través de las técnicas de "absorción-inhibición" o "absorción-elución".

6.4. Metodología de investigación criminalística en sangre

Aunque, en un principio, pueda pensarse que las manchas de sangre son fáciles de reconocer a simple vista, no siempre es así ya que, según el color y el tipo de material donde se encuentre la mancha, o por la antigüedad de la misma, se pueden confundir con otras de procedencia distinta como serían las de moho, vino, zumos de frutas, etc. Además el color de las manchas de sangre puede ser también variable dependiendo de distintas circunstancias. Así, aunque una mancha de sangre relativamente fresca tiene un color castaño rojizo, si se encuentra en capas muy finas puede aparecer de color verde grisáceo³². Tampoco es fácil encontrar manchas sanguíneas que por acción del sol, el calor, el viento o como resultado de algún intento de hacerlas desaparecer mediante el lavado, hayan adquirido un color que puede variar desde el rojo-castaño al negro, o incluso pueden aparecer de color verde, azul o blanco-grisáceas. También, el tipo y el color del soporte, sobre el que aparece la mancha, puede hacernos dudar sobre la naturaleza sanguínea de la misma, por ejemplo, en algunos tipos de tela, la sangre penetra en las fibras y en otros no. Por otra parte, a veces son tan pequeñas que resulta muy difícil asegurar su naturaleza mediante la observación.

En cualquier caso, y aunque no hubiera ninguna dificultad en reconocer una mancha como sangre simplemente por observación, siempre es necesaria una verificación de su naturaleza sanguínea en el momento de la reconstrucción de un caso o de ser presentadas como pruebas en un procedimiento legal.

A grandes rasgos, son cuatro las cuestiones que se plantean en el laboratorio a la hora de identificar manchas³³.

1. ¿La mancha que estudiamos es de sangre? Esta parte de la investigación implica la realización de una serie de procedimientos que reciben el nombre conjunto de diagnóstico genérico. Existen dos tipos de pruebas a aplicar:

- **Pruebas de orientación.** Son muy sensibles pero poco específicas porque además de la sangre, hay otras muchas sustancias que son capaces de dar un resultado positivo al ser sometidas a las mismas, por lo que sólo se puede valorar un resultado negativo. Son técnicas que nos revelan la posible naturaleza de la mancha pero no nos aseguran, es decir, sirven sólo para descartar, pero no para concluir. Por ejemplo, la llamada reacción de Adler o el método del trabajo es una sencilla prueba colorimétrica que si resulta positiva nos orienta a pensar que estamos ante una mancha de sangre, pero sin poder asegurarlo.

Si la prueba resulta negativa podremos asegurar que el resto que estamos analizando no es sangre. Estas pruebas son sencillas de realizar, son de bajo costo, muy rápidas, y nos ayudan a seleccionar las manchas a analizar.

- **Pruebas de certeza** son muy específicas y de menor sensibilidad. Se basan en la detección de hemoglobina en la muestra para determinación de sangre o la visualización al microscopio. Estas pruebas no permiten determinar si la sangre analizada es o no humana. Las técnicas más utilizadas son:

a) Pruebas microscópicas. Consisten en la observación de la mancha por microscopio. Se pueden realizar por examen directo de la muestra, o también sometiéndola previamente a un proceso de aislamiento y tinción de los hematíes y leucocitos.

b) Métodos cristalográficos o microquímicos. En estas pruebas, se somete a la mancha a la acción de distintos reactivos, para obtener determinados derivados de la Hemoglobina. Estos derivados forman cristales de colores y formas características que pueden ser identificadas por observación con un microscopio y permiten asegurar la naturaleza sanguínea de la muestra que se está analizando.

c) Examen luminiscente: En esta técnica se estudia la mancha que se quiere identificar con:

d) la luz de WOOD. En un primer paso se ilumina la muestra directamente. A continuación, se le añade unas gotas de ácido sulfúrico concentrado y se vuelve a examinar a la luz de WOOD. Se puede decir que la mancha que estudiamos es de sangre siempre que en la observación directa no se observe luminiscencia, pero al volver a realizar el examen con la luz de WOOD después de haber tratado la muestra con ácido sulfúrico, se pueda ver una luminiscencia roja.

e) Técnicas espectroscópicas, que consisten en confirmar la presencia de sangre en una mancha, mediante la obtención del espectro de absorción de la Hemoglobina y de sus derivados, obtenidos por la adición de diferentes reactivos.

f) Técnicas cromatográficas. Se identifica la muestra de sangre mediante cromatografía en papel Whatmann nº 1 o sobre capa fina de gel de sílice utilizando como disolvente metanol, ácido acético y agua en proporción 90:3:7

2. Específicas: Nos permiten determinar el tipo de organismo al que pertenece el resto biológico. Una vez que se determina el tipo de muestra que hemos de analizar, interesa saber si se trata de una muestra humana o no. Existen principalmente dos tipos de pruebas específicas: unas basadas en reacciones antígeno-anticuerpo y otras basadas en el estudio de ciertas regiones del ADN, si bien, en cierto tipo de muestras (pelos, restos óseos) puede realizarse un estudio de las características morfológicas para determinar el tipo de organismo. En el caso de que nos encontremos ante una muestra de origen animal, normalmente los análisis terminarán en este punto a no ser que el objetivo sea precisamente determinar la especie (por ejemplo, en caso de delitos ecológicos)³⁴.

3. Una vez que se ha comprobado que la sangre es humana, se intenta determinar a qué grupo pertenece. En algunos casos, se podría conseguir la identificación del individuo del que procede. En principio las pruebas que se realizaban estaban basadas en la obtención del grupo sanguíneo al que pertenece la sangre a analizar.

Las técnicas más utilizadas eran la técnica de Lattes y la de absorción-elución. Actualmente, el diagnóstico individual está basado en el estudio del ADN.

Otros problemas de importancia médico-legal en relación con las manchas de sangre son los siguientes:

- Diagnóstico del sexo del individuo de quién procede: Se aplica la técnica descrita por Zechen 1969 y que se basa en la tinción con quinacrina de la porción distal del cromosoma "Y", con lo que se consigue una fluorescencia característica. Phillips y Gatén, en 1971, utilizaron este procedimiento con fines forenses. Sin embargo, posteriormente se ha comprobado que existen casos de cromosomas "Y" que no presentan luminiscencia, por lo que la técnica no permite afirmar con seguridad el sexo del individuo, ya que se puede obtener un resultado negativo falso en el caso de que la sangre sea antigua, o, como ya hemos indicado, cuando pertenezca a un individuo con fluorescencia "Y" negativa.

- Determinación de la región anatómica de donde procede la sangre analizada: Se realiza mediante un estudio citológico de las células que, en su caso, pudiera contener la mancha.

- Estudio de la data: No es posible hacer un diagnóstico preciso del momento en que se produjo la mancha, tan sólo determinar si es antigua o reciente. Aun en este caso debemos tener en cuenta que en el proceso de envejecimiento intervienen muchos factores que podrían llevarnos a confundir una mancha reciente con una antigua. Algunos de los métodos empleados para el estudio de la data son: la valoración de la velocidad de elución de la mancha en un disolvente apropiado, el test de difusión de cloruros, propuesto por Gisbert e Iborra en 1957, y el estudio de la degradación de las fracciones proteicas que contiene la mancha.

6.5. Técnicas de orientación para una mancha de sangre

En cualquier investigación que se lleve a cabo en un laboratorio de Criminalística con el fin de determinar la naturaleza de una mancha, es fundamental disponer de un método sencillo, rápido y sensible que nos permita determinar si la mancha que es motivo de nuestro estudio es o no sangre. Mediante la aplicación de las pruebas de orientación, se puede determinar si la mancha que se ha encontrado en el lugar de un suceso que se está investigando no es de sangre, lo que, insistimos, es motivo en muchas ocasiones de que la investigación se dé por terminada o, en otros casos, de que no se inicie. Por ello las pruebas de orientación han sido muy estudiadas intentando eliminar las dificultades y posibles interferencias en la aplicación de los distintos métodos propuestos.

Como es bien sabido, existen sustancias que simulan el color de la sangre¹⁸, por ejemplo, determinadas frutas y verduras, pinturas, anilinas, herrumbre, y, además, algunas de ellas contienen componentes capaces de dar un resultado positivo en los test de orientación, dando lugar a lo que llamamos un falso positivo.

Cuando se trata de escoger un método que permita determinar su naturaleza sanguínea, se debe tener en cuenta que se pueden presentar los siguientes problemas:

A) Problemas de las manchas de sangre y su ambiente:

La mancha motivo de estudio está sujeta a muchos condicionantes como son: el tiempo desde que se produjo, su posible estado de putrefacción o de calcinación, o también la mezcla con otras sustancias; por ejemplo, al intentar limpiar la mancha se puede haber utilizado cualquier sustancia que altere las características de la misma.

B) Problemas del método investigador:

Existen otros factores de origen físicoquímico que se deben tener en cuenta ya que muchas de las técnicas estudiadas tienen como fundamento diferentes reacciones químicas, que están a su vez sujetas a distintas variables como: la temperatura, pH del medio, concentración, velocidad de la reacción, etc., de forma que, una reacción que en determinadas condiciones se produce según un mecanismo conocido, si se varían algunos factores, se puede alterar de tal forma que nos dé resultados no esperados, conduciendo a falsas conclusiones.

6.5.1. Técnica de la Bencidina o de Adler

La bencidina fue utilizada por Adler desde 1904 en la clínica y posteriormente se aplicó en Medicina Legal. Es el método más utilizado y desde que fue propuesto, ha estado sometido a diferentes modificaciones que afectan tanto a los reactivos empleados como a la técnica que se utiliza en su aplicación.

En el caso de la prueba de Adler, el reactivo se obtiene a partir de la bencidina. Se han descrito diferentes formas de prepararlo. En un principio se utilizaba una disolución de bencidina en alcohol.

Posteriormente se propuso un procedimiento alternativo, que consiste en disolver a saturación la bencidina en ácido acético glacial. También, se ha utilizado como reactivo una dilución de bencidina en ácido clorhídrico, este reactivo presenta más inconvenientes que el preparado con ácido acético glacial, como donante de oxígeno lo más habitual es utilizar el agua oxigenada.

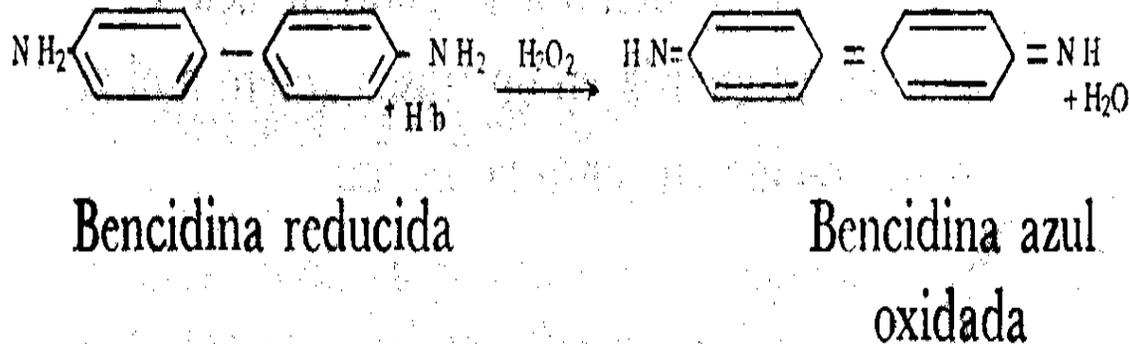
FUNDAMENTO QUÍMICO:

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



R: grupo que contiene las peroxidasas.

El grupo hem de la hemoglobina posee esa actividad enzimática, que puede catalizar la ruptura del peróxido de hidrógeno. Mientras no, estén presentes otras sustancias orgánicas oxidantes, esta actividad de la hemoglobina, descompone el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno, que al reaccionar con la bencidina la oxidarán formando un compuesto intensamente azul³⁵.



La oxidación de la bencidina es utilizada como prueba presuntiva para la identificación de sangre. La técnica tiene una buena sensibilidad³⁸ de 1:1,300,000 a 1,500,000.

Un resultado negativo excluye la presencia de sangre; si la reacción es positiva requiere, como toda técnica de orientación, del empleo de reacciones de confirmación ya que se pueden obtener falsas reacciones positivas con otras sustancias que tengan actividad semejante a la de las peroxidasas o bien con otros materiales oxidantes: Cuadro 1.

Cuadro 1 Sustancias que dan falsos positivos en la identificación de sangre.

PLANTAS	PRODUCTOS BIOLÓGICOS	OTRAS SUSTANCIAS
Manzanas	Médula ósea	Herrumbre
Espárragos	Leucocitos	Formol
Frijol	Tejido cerebral	Estiércol
Acelgas	Moco	Sulfato de cobre
Zarzamora	Intestino	Dicromatos
Alcachofa	Pus	Permanganato de potasio
Papa	Pulmón	Algunos blanqueadores
Nabo	Saliva	

Solución de bencidina

La bencidina es carcinógena. Ésta debe ser empleada solo con las adecuadas precauciones de salud y seguridad. La sustitución por otra prueba presuntiva es altamente recomendada. Si hay sangre se produce un color verde y luego una coloración azul de Prusia intenso y persistente figura 17.



Figura 17. Prueba positiva para la prueba de Adler³⁵.

Preparación del reactivo de Adler.



El reactivo de Adler se debe preparar extemporáneamente según el método siguiente:

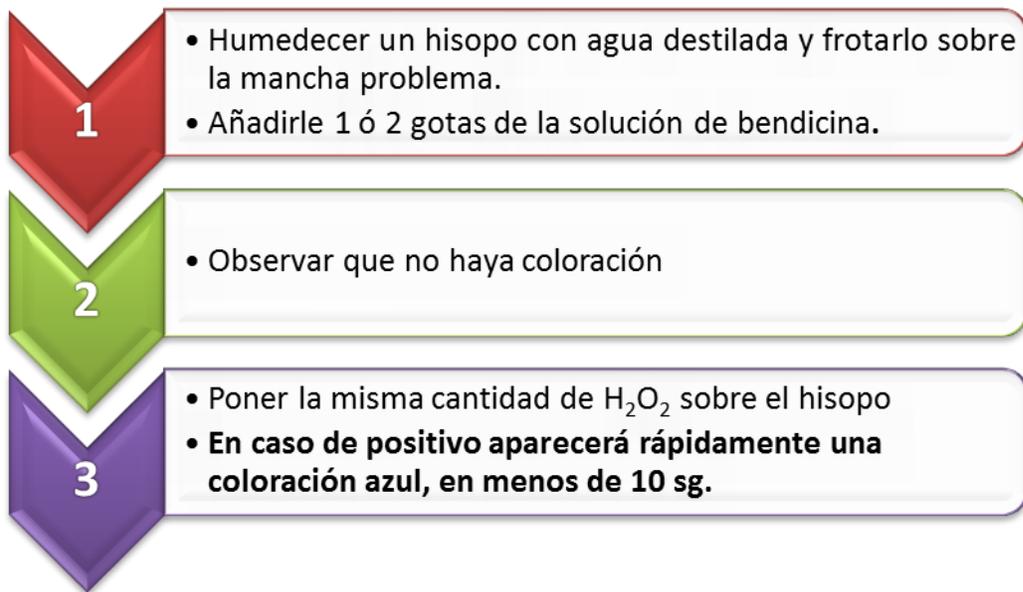
Poner en un vaso de precipitados limpio y seco, 10 mL de ácido acético glacial,

Se añade pequeñas cantidades de bencidina, agitando hasta que se disuelva totalmente. Seguir añadiendo bencidina hasta que no sea posible disolverla más, obteniendo al final una solución de color caramelo.

Si fuera necesario, se filtra el reactivo para eliminar el exceso de bencidina que puede quedar sin disolver.

La disolución saturada de bencidina en ácido acético es lo que conocemos como reactivo de Adler. Llenamos un frasco gotero color ámbar con el reactivo y le ponemos una etiqueta que indique su composición y la fecha de preparación, se guarda en el refrigerador.

Procedimiento técnica de Adler



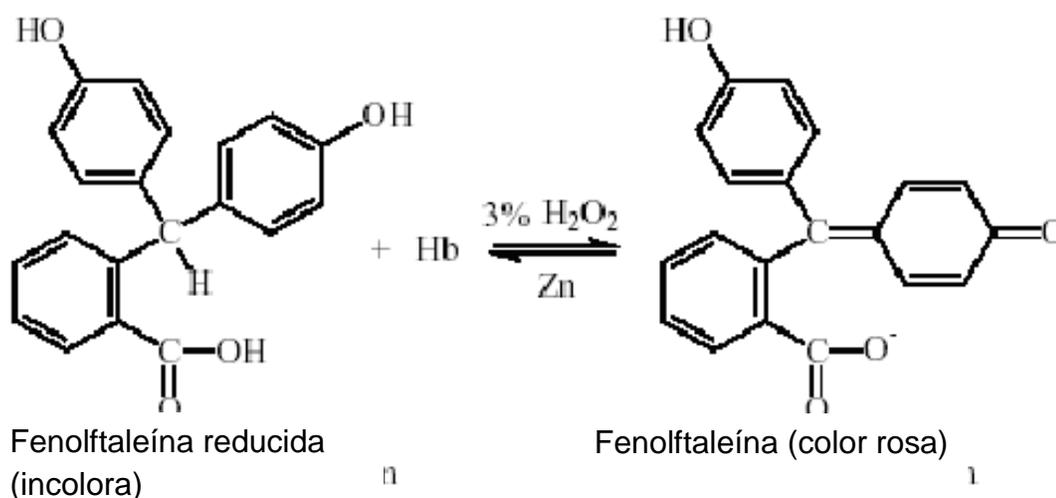
6.5.2. Técnica de la Fenolftaleína reducida o de Kastle-Meyer

La **prueba de Kastle-Meyer** es una prueba forense preliminar, descrita por vez primera en 1903, en la que se usa el indicador químico fenolftaleína. Se fundamenta en la actividad, similar a una peroxidasa, de la hemoglobina en la sangre, para catalizar la oxidación de la fenolftaleína (la forma reducida incolora de la fenolftaleína) a fenolftaleína, que es visible por su color rosado brillante³⁷.

FUNDAMENTO QUÍMICO

El fundamento es esencialmente el mismo que se señaló para la reacción de la bencidina. La diferencia está en que:

- La fenolftaleína debe ser reducida previamente a fenolftaleína incolora y este reactivo, por su labilidad debe ser guardado en refrigeración en frasco ámbar.
- Se trabaja en medio alcalino en vez de en medio ácido.
- Se efectuará un calentamiento previo a 100 °C durante un minuto.



Termolabilidad: Se ha confirmado que todas las peroxididasas vegetales se inactivan por calentamiento a 100 °C. A la misma temperatura las peroxididasas de origen animal son estables. Un período corto de calentamiento (un minuto a 100 °C), servirá para diferenciar una de otra.

- Tiempo*: las peroxididasas de origen animal son muy estables; las manchas de sangre humana dan resultados positivos aún después de varios meses de haberse producido.

b) *pH*: Las peroxidasas de las plantas reaccionan en medio ácido, pero no en medio alcalino. Por esta razón, la técnica de Kastle-Meyer es más confiable. A pesar de esto deben efectuarse pruebas testigo sin añadir agua oxigenada a muestras previamente calentadas a 100 °C; aun así, sigue siendo solamente una técnica de orientación.

Esta técnica de la fenolftaleína reducida es más sensible que la de la bencidina, siendo esta sensibilidad³⁸ de 1:1 000,000 a 10, 000,000.

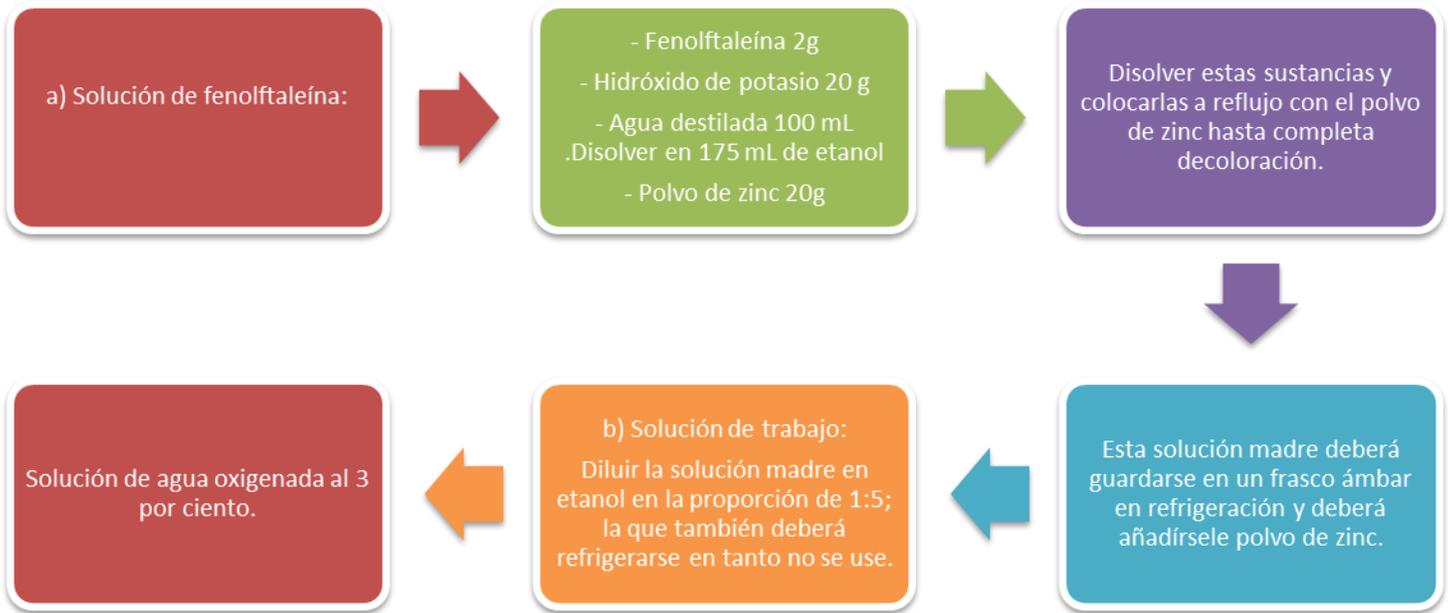
La presencia de sangre se ve indicada por un color rojo. Esta reacción es muy sensible, se obtiene con manchas viejas y aún lavadas.

La presencia de sangre se ve indicada por un color rojo figura 18. Esta reacción es muy sensible, se obtiene con manchas viejas y aun lavadas.

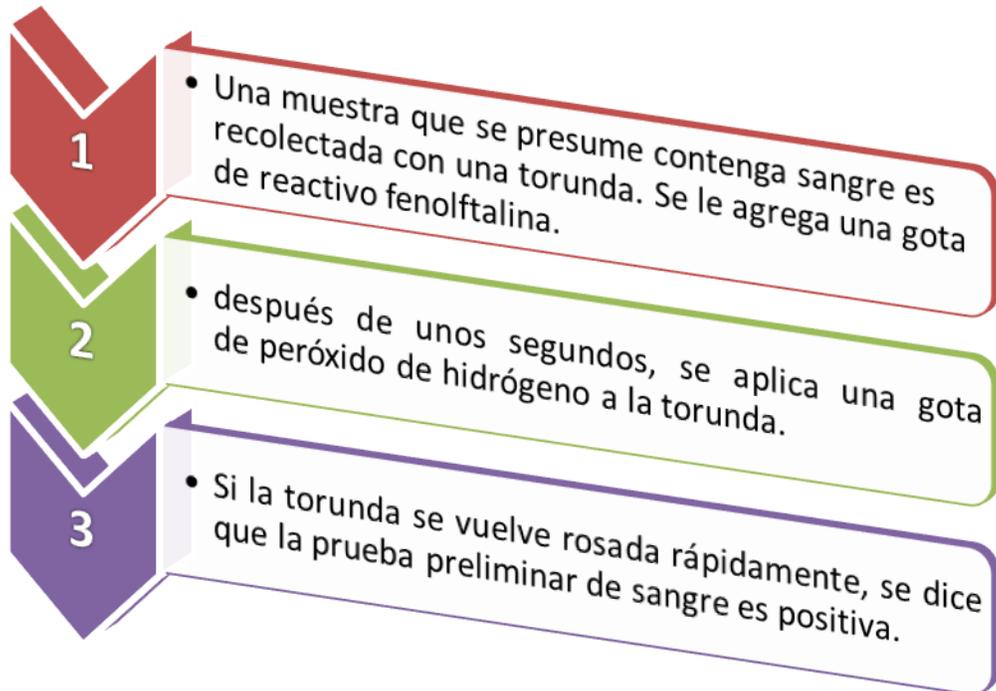


Figura 18. Prueba positiva Kastle-Meyer³⁷.

Preparación solución de fenolftaleína



Procedimiento técnica fenolftaleína.



Nota: Si se ha de esperar más de 30 segundos, resultará en que muchas torundas se vuelvan rosadas naturalmente, puesto que se oxidarán por su cuenta en el aire.

Opcionalmente, la torunda puede ser tratada primero con una gota de etanol, con el fin de lisar las células presentes, y ganar sensibilidad y especificidad.

Limitaciones

Aunque se ha reportado que la prueba de Kastle-Meyer es capaz de detectar diluciones de sangre hasta de $1:10^7$, hay un número de limitaciones importantes para el test. La prueba dará un resultado falso positivo en la presencia de peroxidases vegetales, como los encontrados en la cola de caballo, brócoli, coliflor, etc. Adicionalmente, otras especies oxidantes en la muestra causarán un falso positivo. Oxidantes químicos como las sales de cobre o de níquel también causarán que el reactivo de Kastle-Meyer se vuelva rosado antes de la adición del peróxido de hidrógeno, por lo que es de vital importancia agregar el reactivo primero, esperar unos cuantos segundos, y luego agregar el peróxido de hidrógeno.

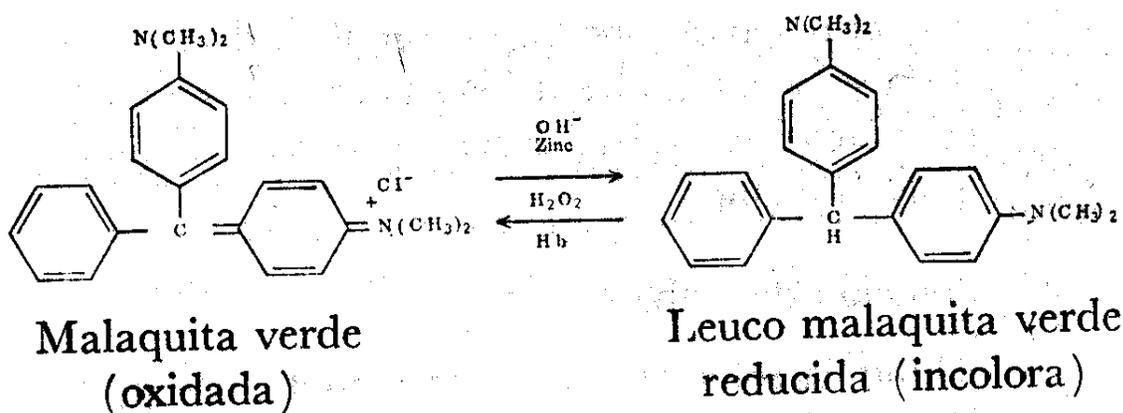
La prueba de Kastle Meyer tiene la misma reacción con la sangre humana que con cualquier otra sangre basada en hemoglobina³⁹.

6.5.3. Técnica de la leuco malaquita verde.

La estructura química de esta sustancia recuerda a la de la fenolftaleína. El prefijo "leuco" se refiere a la forma reducida incolora; la forma leuco puede ser preparada por reducción de la malaquita verde. Como en el caso de la fenolftaleína, la forma leuco puede ser oxidada por acción de las peroxidasa para dar la forma oxidada verde. Esta técnica fue reportada por Hunt, quién señala que la encontró más confiable para sangre, aunque menos sensible que la de la bencidina^{35, 36}.

FUNDAMENTO QUÍMICO

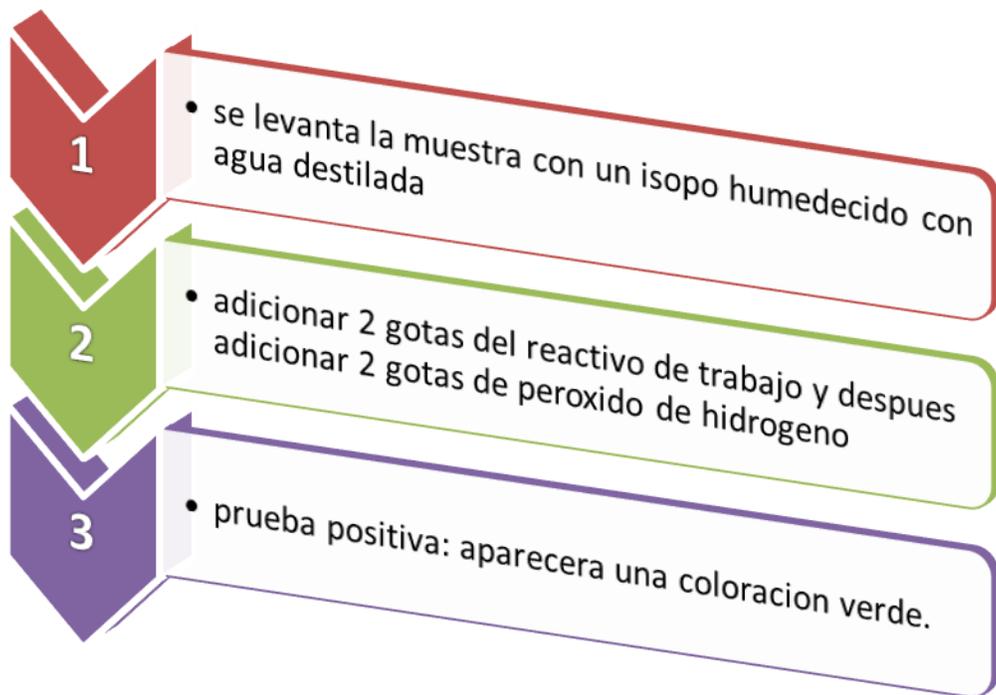
Se basa, al igual que las anteriores, en una reacción de oxidación y reducción..



Preparación de reactivo leuco malaquita verde.



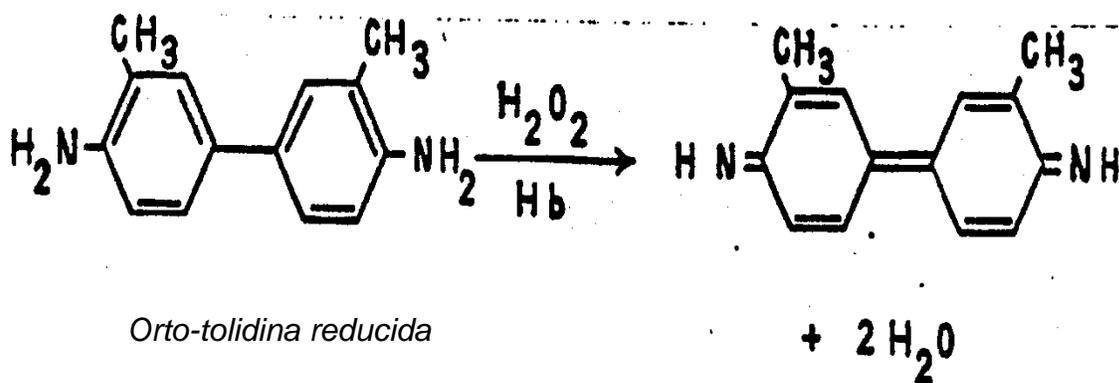
Procedimiento para la técnica leuco malaquita verde.



6.5.4. Técnica de la orto-tolidina

FUNDAMENTO QUÍMICO

La química de la prueba es esencialmente la misma que para la prueba de bencidina.



Orto-tolidina reducida

Orto-tolidina oxidada

Preparación reactivo de o-tolidina.

solucion madre ,6 g de
O-Tolidina y 40 ml de
etanol. conservar en
frasco ambar

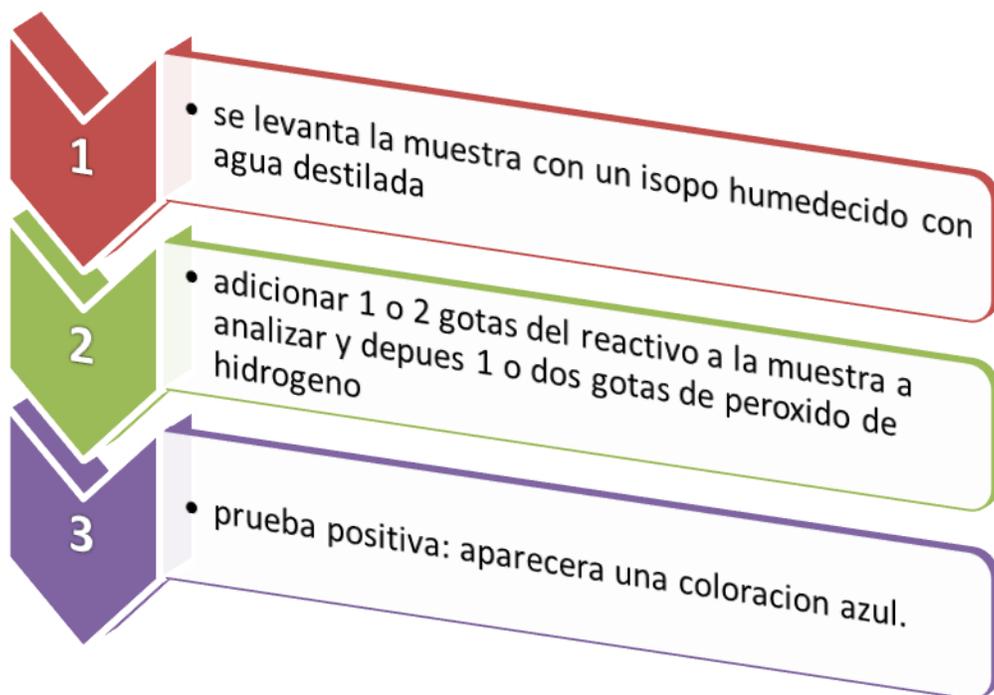


solucione de trabajo :
solucion madre mas
ácido acético glacial y 30
ml de agua destilada . se
guarda en el refrigerador



Solución de agua
oxigenada al 3 por ciento

Procedimiento técnica *Orto-tolidina*



Como en el caso de la prueba de la bencidina, para poder considerar la reacción positiva, el viraje debe tener lugar en menos de 10 segundos. La sensibilidad del método es similar a la de la bencidina.

Todos los métodos revisados hasta el momento tienen dos características en común:

1. Son muy sensibles, capaces de detectar trazas de sangre
2. Son poco específicos, es decir, pueden dar un resultado positivo para gran cantidad de sustancias además de la sangre; por ello, sólo se puede valorar un resultado negativo de la prueba.

Los falsos positivos obtenidos en la aplicación de las pruebas de orientación han sido motivo de estudio por diferentes autores, que han intentado encontrar métodos para poder identificar los compuestos capaces de interferir en la reacción que se aplica y la forma de evitar la interferencia de los mismos³⁷.

Así, Pinker realizó un estudio sobre las sustancias que son capaces de interferir en la prueba de Adler, la reacción de la leucomalaquita verde, y el reactivo de Kastle-Meyer. Para esto, eligió 95 productos químicos, capaces de interferir y realizó las tres pruebas con cada uno de ellos. El resultado de las pruebas fue que sólo uno de los compuestos analizados daba positivo en las tres pruebas.

Posteriormente, realizó la misma investigación a partir de 50 manchas obtenidas a partir de frutas, tintes, productos fisiológicos, etc. Comprobó que ninguna de las muestras daba positivo en todos los test. Según estos resultados, se puede concluir que una forma de detectarlos falsos positivos, es realizar más de un test sobre la muestra a analizar.

Centrándonos en la prueba de la bencidina, también se han estudiado con detenimiento las posibles causas de falsos positivos³⁴.

Así, se ha comprobado que la oxidación de la bencidina por el peróxido de hidrógeno, no se produce si no existen peroxidasas, pero sí se ve afectada por la presencia en la muestra de agentes oxidantes químicos en solución ácida y por distintos catalizadores. Según esto, existe posibilidad de obtener falsos positivos en las siguientes circunstancias:

a) Por contaminación causada por agentes ajenos a la muestra:

La sensibilidad de la prueba es muy alta, por lo que se deben realizar pruebas de control para asegurarse de que se obtiene un positivo verdadero, comprobando que no se debe a ningún contaminante que se encuentre en el soporte de la mancha, al mal estado de los reactivos o a haber seguido un procedimiento incorrecto al realizar la prueba. Deforma inesperadamente, se encuentra un resultado positivo en un caso en el que debe obtenerse un negativo, se debe intentar encontrar el motivo antes de realizar la prueba sobre la muestra.

b) Presencia de oxidantes químicos y catalizadores:

Aunque los oxidantes químicos pueden dar lugar a un resultado positivo a la prueba de la bencidina, su comportamiento es distinto al de la sangre. Se pueden distinguir porque el color obtenido generalmente es intenso, pero distinto al que se observa si la muestra contiene sangre. Sin embargo, el color desarrollado por el contaminante, puede impedir la correcta valoración del resultado del test.

Debemos señalar que cuando se realiza la prueba de Adler, en una muestra que contiene oxidantes químicos, al añadir el reactivo se observa una decoloración de la misma, lo que no ocurre cuando se aplica sobre una muestra que sólo contiene sangre. Si se produce la decoloración, se debe sospechar que existen contaminantes en la mancha a estudiar y se debe tener en cuenta a la hora de interpretar los resultados obtenidos. Además, es importante detectar la existencia de estas interferencias, para intentar eliminarlas antes de someter a la muestra a otras pruebas de identificación.

Los catalizadores químicos, dan una reacción positiva en la prueba que se basan en las reacciones de las peroxidasas son los más estudiados como posibles interferencias en la reacción de la bencidina, han sido las sales de cobre y níquel. Sin embargo, también en este caso la reacción se desarrolla de forma distinta que cuando se realiza con sangre. Al añadir el reactivo a una muestra que contiene catalizadores, aparece una débil coloración.

Si, se agrega el peróxido de hidrógeno, esta coloración desaparece inmediatamente y después, muy lentamente, se va observando el desarrollo de la coloración azul característica de la prueba de la bencidina.

Con este tipo de contaminantes también se ha comprobado que los catalizadores, cuando se someten a la prueba de Adler utilizando muestras secas, no dan un resultado positivo. En el caso de oxidantes químicos, si se realiza la reacción sobre cristales del producto contaminante, se obtiene un resultado negativo.

Además, debido a su alta sensibilidad, la reacción de la bencidina permite detectar trazas de sangre no visible. Esto no ocurre en el caso de los agentes químicos oxidantes, ni cuando se trata de determinar trazas de catalizadores.

c) Presencia de peroxidasas vegetales

Es el grupo más importante de compuestos que pueden interferir en la prueba que se basan en las reacciones de las peroxidasas. Se ha comprobado que muchos tejidos vegetales dan una reacción intensa con la bencidina que induce a error⁴⁰. Sin embargo, se deben tener en cuenta diversos factores; en primer lugar, se debe observar el color de la mancha que se va a identificar. El color blanco y el verde son los que, generalmente, están asociados a productos vegetales. Por otra parte, hay que señalar que las peroxidasas vegetales se encuentran en las células de los tejidos, por lo que el jugo que procede del vegetal da una reacción negativa o muy tenue. Culliford y Nickols señalan, en un estudio que analiza las posibles interferencias en la reacción de la bencidina, que según afirma Nickols³⁴, para obtener una reacción intensa, sería necesaria la presencia de tejidos o fragmentos de tejidos. Estos fragmentos serían fácilmente identificables examinando la mancha con un microscopio.

Para evitar confundir las manchas que son de sangre, con las que proceden de vegetales, se han estudiado las diferencias que existen entre las peroxidasas vegetales y las animales. Las conclusiones son las siguientes:

1. Efecto del calor:

Las peroxidasas de origen vegetal se inactivan con el calor. A una temperatura de 100°C, todas ellas se inhiben rápidamente. A esa misma temperatura, las peroxidasas animales son relativamente estables, de forma que se ha propuesto que calentando la muestra que se va a identificar, durante un periodo corto (5 minutos), a una temperatura de 100°C, se consigue eliminar la interferencia por la posible presencia de peroxidasas vegetales.

2. Efecto del tiempo

Las peroxidasas de origen animal son muy estables al paso del tiempo. Las manchas de sangre antiguas dan una reacción positiva en la prueba de la peroxidasa. En el caso de las peroxidasas vegetales, se comprueba que la antigüedad de la muestra influye en el resultado de la prueba. En experiencias realizadas a partir de huellas de las manchas obtenidas en papel de filtro, extractos acuosos de las manchas, o haciendo el estudio directamente sobre el soporte en que se encuentran, se observa que, a partir de los 5 días de antigüedad, ninguna prueba da un resultado positivo, excepto las realizadas directamente sobre las manchas, en las que es posible ver una reacción positiva muy débil, y sólo en los casos en los que ésta es muy intensa.

3. Efecto del pH

La actividad de las peroxidasas vegetales se potencia en medio fuertemente ácido, sin embargo a pH básicos, no son reactivas. Es por esta razón por la que se ha apuntado que la reacción de la fenolftaleína es más específica que la prueba de Adler. Sin embargo se debe tener en cuenta que en el caso de la reacción de la fenolftaleína, el reactivo es más complicado de preparar, conservar y usar.

El estudio de los falsos positivos en la prueba de la bencidina, ha sido considerado fundamental, y todas las investigaciones se dirigen a intentar conocer los compuestos capaces de actuar como interferencias en la reacción y la forma de evitarlas. De esta forma se conseguiría aumentar la especificidad del test.

Todos los autores, coinciden en afirmar que un resultado positivo en la prueba de Adler, en general, no se puede considerar concluyente y no es posible, a partir de ese resultado, asegurar que la mancha que se está estudiando es de sangre^{34,40}.

Sin embargo, hasta el momento, lo que se acepta es que si se obtiene un resultado negativo, la mancha no es de sangre.

6.6. Pruebas de certeza

6.6.1. Técnicas espectroscópicas

Técnicas espectroscópicas, que consisten en confirmar la presencia de sangre en una mancha, mediante la obtención del espectro de absorción de la Hemoglobina y de sus derivados, obtenidos por la adición de diferentes reactivos.

La hemoglobina, tiene una muy alta absorción en la región de longitud de onda visible, siendo el componente que más absorbe en el tejido humano.

La hemoglobina se presenta en dos formas: en forma oxidada (oxihemoglobina) y reducida (desoxihemoglobina) tienen características espectrales diferentes ver figura 19. La tiene su pico más alto en aproximadamente 414 nm y dos picos inferiores a 542 y 577 nm. Los picos de absorción de la desoxihemoglobina se encuentran en 433 nm, 556 nm y 760 nm⁴⁰.

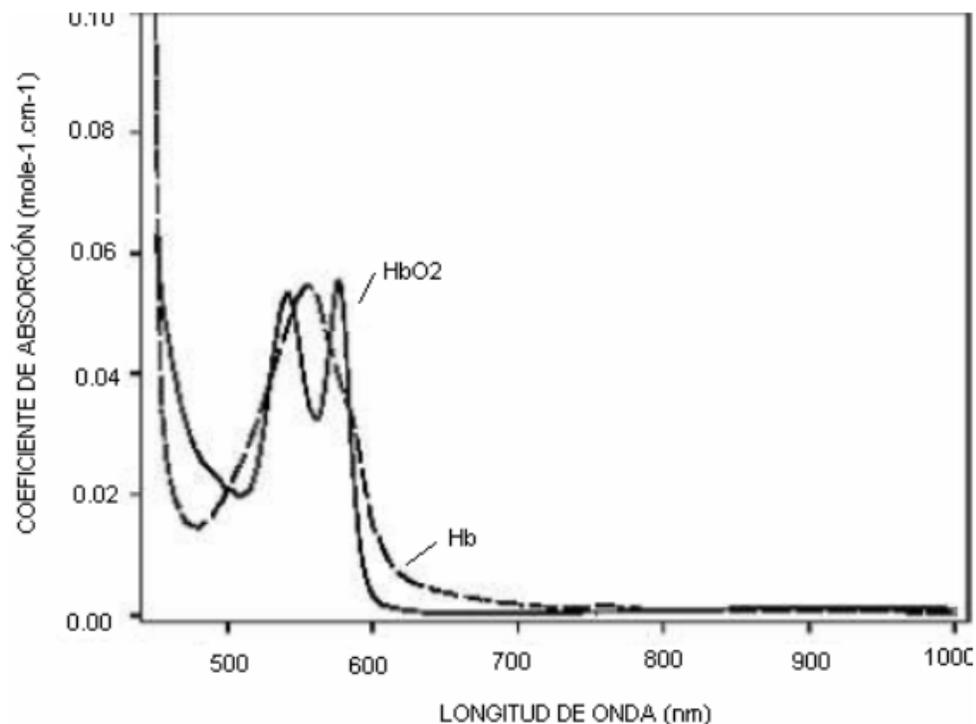


Figura 19. Imagen espectroscópica de la oxihemoglobina y desoxihemoglobina⁴⁰.

En la investigación criminalística, no es suficiente con obtener el espectro de la oxihemoglobina, sino que es necesario someter la muestra a una marcha espectral.

Metodología

Se extrae la mancha de sangre con agua destilada, se filtra y se lleva a un espectrofotómetro ultravioleta visible de doble haz, que permite realizar un barrido espectral con registro gráfico; la hemoglobina así estudiada registra bandas de absorción a 575, 540 y 412 nm.

La muestra anterior, se alcaliniza con hidróxido de potasio y se le añaden unas gotas de piridina; la solución toma un color verde que corresponde a la hematina alcalina. En el espectro se observará que desaparecen las bandas anteriores y se obtendrá en cambio, una banda a 600 nm.

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

En la práctica forense cotidiana en el laboratorio de la Procuraduría General de Justicia del Distrito Federal, se ha comprobado que una mancha es de sangre con una metodología espectroscópica mucho más simple y rápida, procediendo como sigue⁴¹:

Impregnar un pequeño trozo de 5X5 mm. de tela limpia sin almidón, de color blanco con la muestra problema.

1. Colocar la muestra así obtenida en un tubo de ensayo y añadirle 5 mL. de agua destilada, dejándola reposar durante 10 min. Para lograr una eficiente extracción; pasado este tiempo, filtrar.
2. Efectuar el barrido espectral en la zona del espectro visible; se obtendrán tres bandas de absorción. Dos finas a 575 y 540 nm. Y una banda ancha a 412 nm. Este espectro corresponde a la oxihemoglobina figura 20.
3. Efectuar nuevamente la extracción de la muestra problema como se indica en el punto 2, pero utilizando en vez de agua destilada, 5 mL. de una solución de ferricianuro de potasio al 0.5 por ciento. Al realizar el barrido espectral en la región del visible, se obtendrá una banda a 630 nm, banda que corresponderá a la metahemoglobina.
4. Sobre la misma celda de muestra añadir unos gránulos de cianuro de potasio; al efectuar el registro espectroscópico deberá desaparecer la banda de longitud de onda correspondiente a 630 nm. Y se obtendrá una banda a 540 nm. Debida a la formación de cianometahemoglobina.

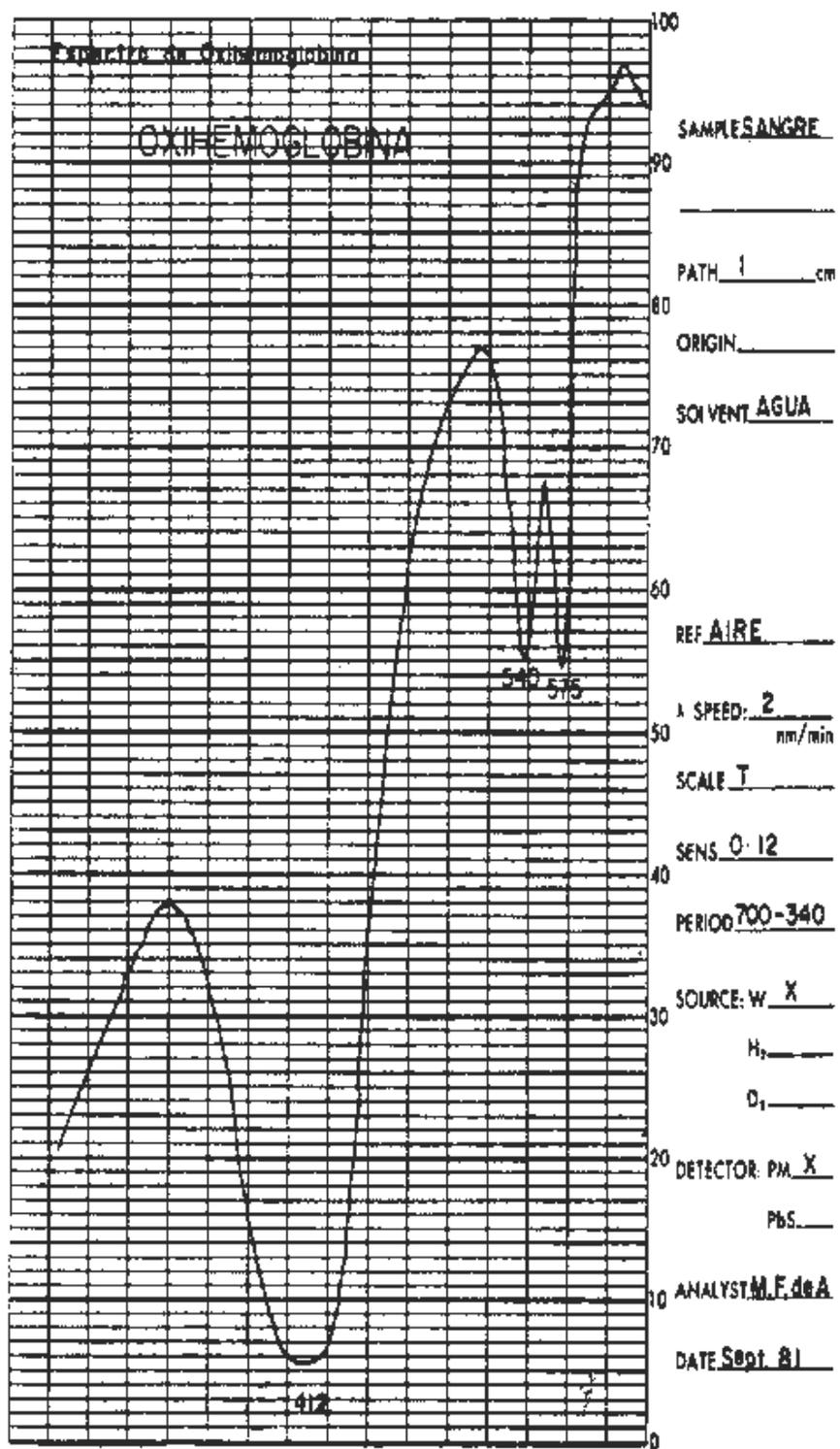


Figura 20. Espectro U.V. para la Oxihemoglobina⁴¹.

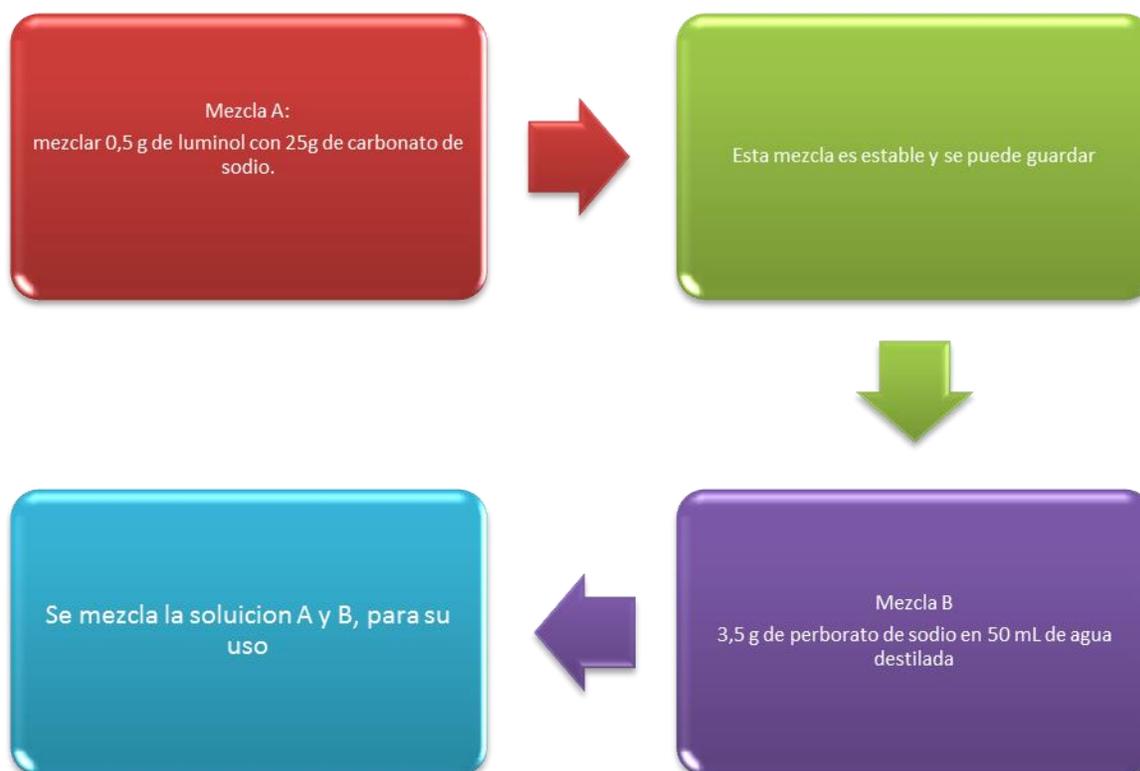
6.6.2. Prueba del Luminol

Con frecuencia, las ropas manchadas de sangre durante un acto violento son lavadas para tratar de eliminar los vestigios, lo que plantea una mayor dificultad en la detección de la mancha por lo cual se requiere de métodos precisos como el test de Luminol que es el más eficaz y utilizado en el área.

El Luminol es un derivado del ácido ftálico. Se trata de un sólido verdoso poco soluble. Su mayor importancia reside en la reacción de químoluminiscencia que da con peróxidos en presencia de complejos de hierro como catalizadores.

En estas pruebas se genera una reacción química con el fin de deshacerse del exceso de energía liberando fotones en forma de luz fría. Al poner en contacto la mezcla química con agentes oxido reductores, peroxidasa o catalasas en medio fuertemente alcalino, hacen que se liberen oxígenos y éstos desplacen nitrógenos de la base empleada para la reacción, liberándolos; éstos son muy inestables y forman fotones que se pueden observar en la oscuridad mediante la emisión de la luz azul fría⁴¹.

Preparación reactivo de luminol



Procedimiento técnica de Luminol

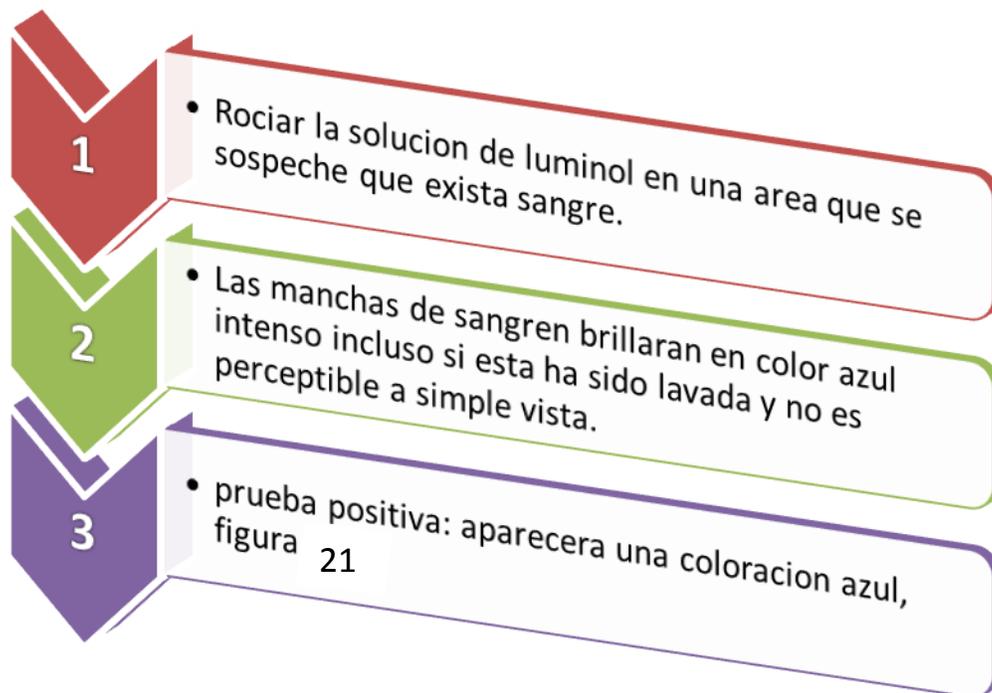


Figura 21. La reacción del Luminol indica un estado electrónicamente excitado⁴¹.

Fundamento

La reacción de quimioluminiscencia ocurre cuando la urea (base nitrogenada) más una sustancia fuertemente alcalina (peróxido de hidrógeno) en presencia de agentes óxido reductores (hierro de la sangre), peroxidasas y/o catalasas, hacen que libere oxígeno del álcali más agua y éstos desplacen nitrógenos de la urea, liberándolos, por ser éstos muy inestables (N_2) forman fotones que se pueden observar en la oscuridad mediante la emisión de luz azul brillante figura 22. Cuando no existen agentes óxidos reductores, peroxidasas y/o catalasas en esta reacción, no se observa la emisión de luz azul brillante⁴².

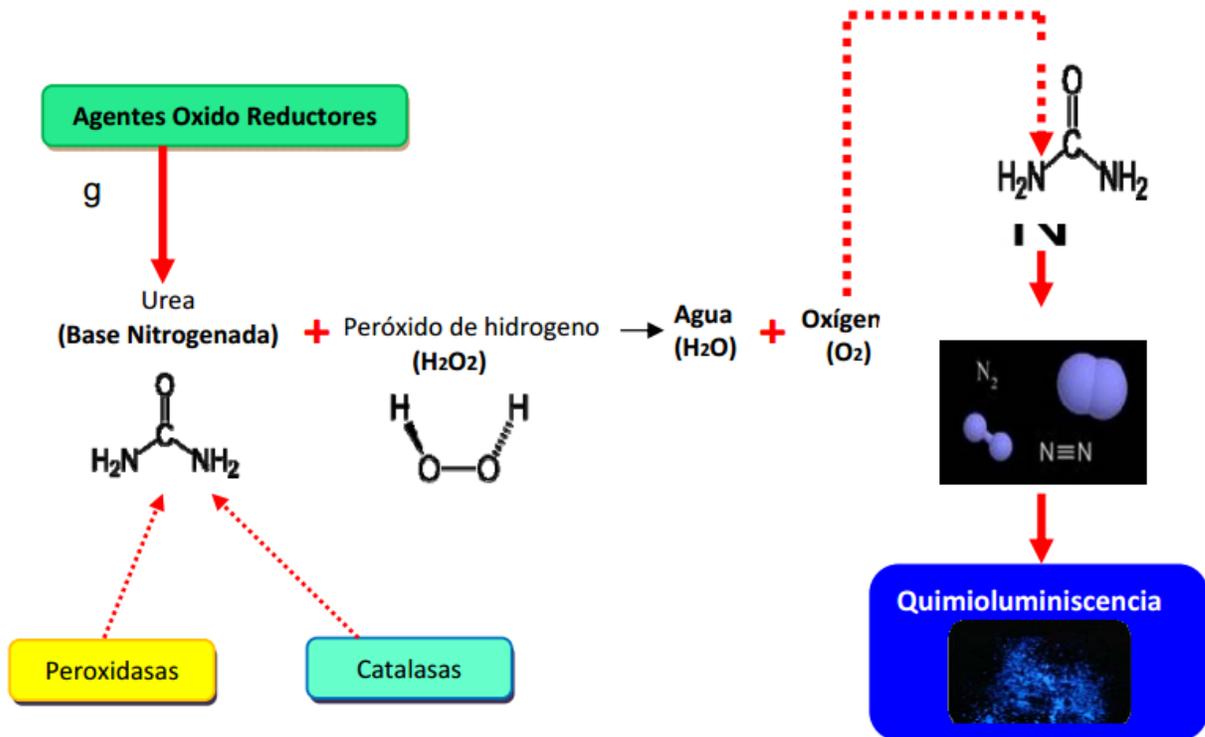


Figura 22. Reacción de Luminol con la sangre⁴³.

La sensibilidad es de 1/5000000 y es más efectivo con sangre antigua que con sangre fresca. Se puede aumentar la efectividad rociando previamente la mancha con ácido hidroclicórico al 2 por ciento para descomponer la hemoglobina⁴³.

Las confusiones con otra clase de compuestos que puedan dar falsos positivos de sangre en la escena de un crimen pueden ser desmentidos con la observación cuidadosa del color e intensidad del brillo, además de la espuma formada en muestras frescas de sangre. Este producto químico es una herramienta muy importante en el desarrollo de la criminalística de campo, especialmente en el rastreo de hematíes.

6.7. Técnicas de confirmación

Son muy específicas y de menor sensibilidad. Se basan en comprobar la presencia en la muestra de alguno de los componentes de la sangre.

Estas pruebas, se somete a la mancha a la acción de distintos reactivos, para obtener determinados derivados de la Hemoglobina. Estos derivados forman cristales de colores y formas características que pueden ser identificadas por observación con un microscopio y permiten asegurar la naturaleza sanguínea de la muestra que se está analizando. Las dos técnicas más utilizadas son la de Teichmann para obtener cristales de clorhidrato de hematina, y el método basado en la obtención de cristales de hemocromógeno, utilizando el reactivo de Takayama. Estas pruebas no permiten determinar si la sangre analizada es o no humana.

6.7.1. Prueba de Takayama o (hemocromogeno)

Probablemente el más conocido de las pruebas de cristal son los desarrollados por Takayama aproximadamente hace 80 años, donde se agregaba a una solución alcalina de piridina a la mancha y si es sangre presenta cristales de color rosas por la formación de un complejo entre la piridina y el Hem de la hemoglobina.

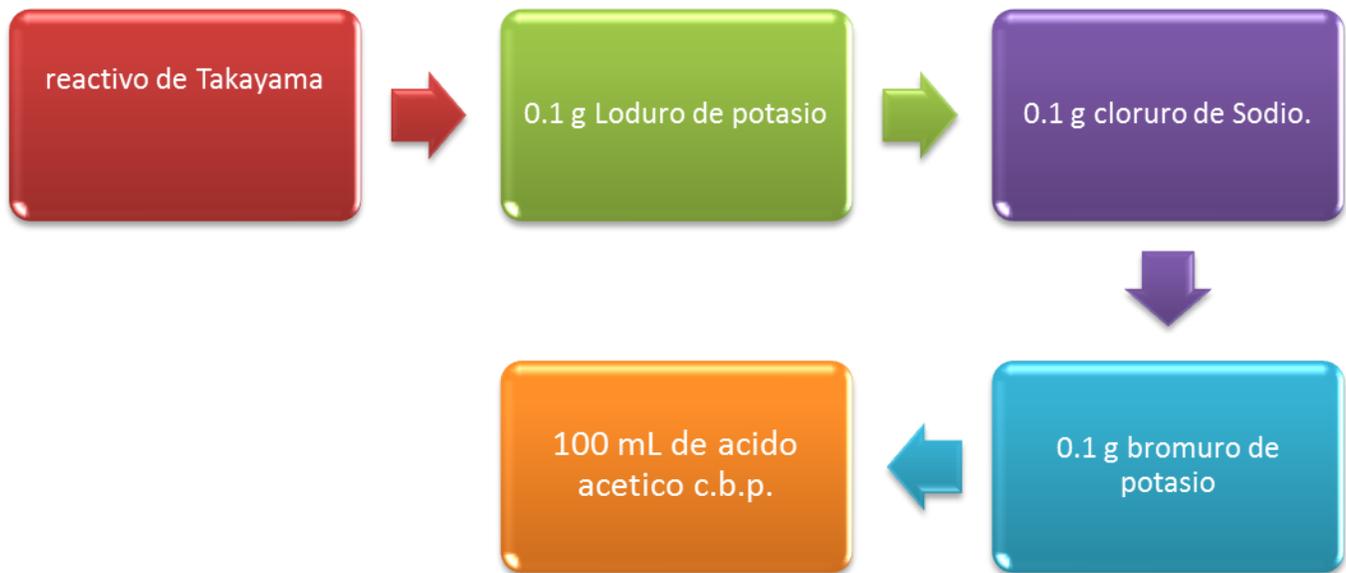
La sensibilidad es aproximadamente 0.001 mL de sangre y de 0.1 µg de hemoglobina. Un resultado negativo de la muestra que la mancha no es sangre. Las manchas de sangre de 20 años de antigüedad han dado resultados positivos en las pruebas de cristalización⁴⁵.

FUNDAMENTO QUIMÍCO

Tanto la ferroprotoporfirina como la ferriprotoporfirina tienen la propiedad de combinarse con otros compuestos nitrogenados por medio de la globulina.

Tales compuestos incluyen otras proteínas, hidróxido de amonio, cianuro, nicotina y piridina y los productos resultantes se llaman hemocromógenos. Los cristales pueden formarse tanto en medio ácido como alcalino, sin embargo, el reactivo de Takayama es de naturaleza alcalina³⁰.

Preparación para el reactivo de TAKAYAMA



Procedimiento para la prueba de Takayama

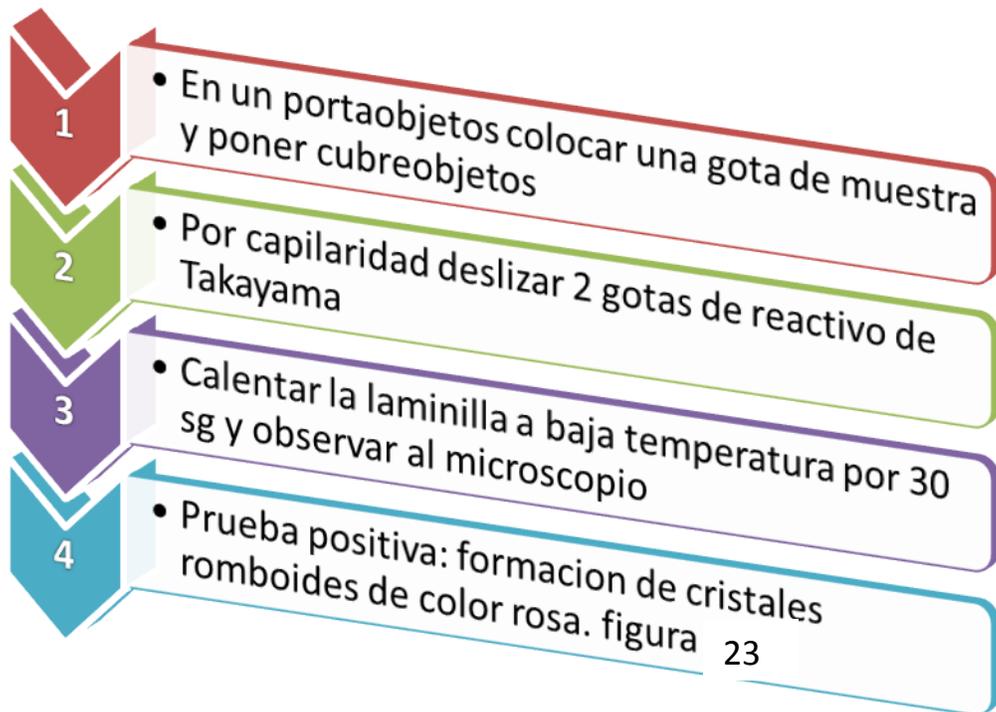




Figura 23. Resultado positivo de los test Takayama⁴⁵.

6.7.2. Cristales de hemina o cristales de Teichman.

En 1853 Ludwing Teichmann, en Polonia, desarrollo el primer ensayo cristalográfico para hemoglobina usando cristales de hemina o hematina.

FUNDAMENTO QUÍMICO

La hemoglobina, cuando es tratada con ácido acético, se separa inmediatamente de las proteínas del grupo proteico. Durante la hidrólisis la globulina se desnaturaliza⁴⁴.

La oxidación del hierro del grupo hem se efectúa más rápidamente en medio ácido que en medio alcalino. Si está presente un halógeno inorgánico como el cloro, se formarán cristales insolubles de cloruro de ferriprotoporfirina o hemina figura 25

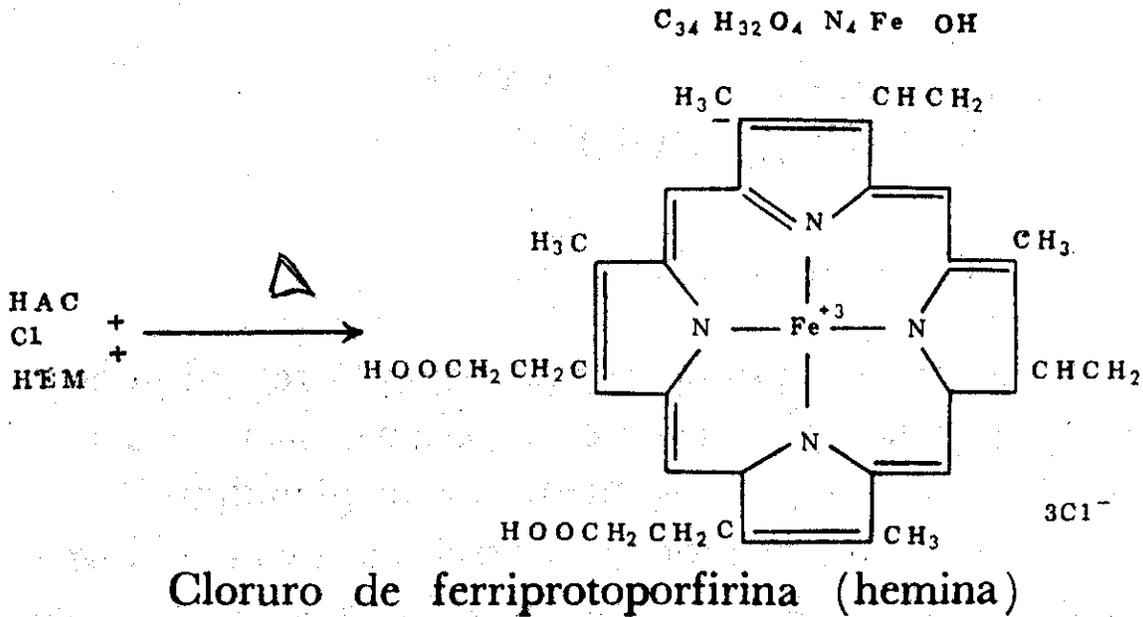


Figura 25. Formación de cristales hemina⁴⁴.

La formación de cristales de hemina no es afectada por la edad de la muestra de sangre, ya que han sido reportados casos de prueba de Teichman positiva con muestras de más de veinte años⁴⁴.

Preparación del reactivo de Teichman



Procedimiento técnica Teichman

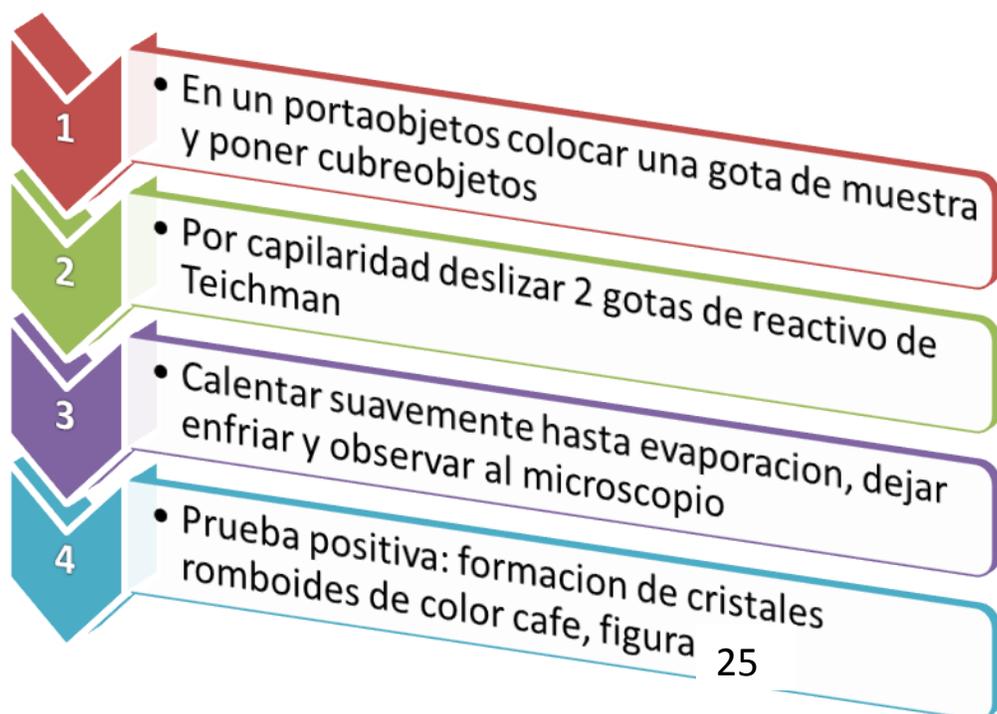




Figura 25. Resultado positivo de los test de Teichmann⁴⁴.

6.8. Determinación de la naturaleza humana de una mancha de sangre

Después de que una mancha ha sido identificada como sangre, es necesario para el Químico forense determinar si es o no de origen humano, y si no es de origen humano, determinar a qué especie pertenece. La mayoría de los métodos de uso común para determinar el origen de la especie son inmunológicos.

Si un animal es inyectado con una molécula proteica de otra especie, éste reconocerá esta proteína como una sustancia extraña (antígeno) y producirá un antisuero (anticuerpo) que reaccionará con cada proteína tanto in vivo como in vitro. La reacción antígeno-anticuerpo (Ag-Ac) in vitro es detectada por la formación de un complejo Ag-Ac⁴⁵. Este complejo puede ser demostrado. La prueba de precipitación inmunológica para la determinación médico legal en manchas de sangre fue empleada por primera vez en 1901.

6.8.1 Pruebas de laboratorio para determinación de especie

Las pruebas de laboratorio para determinar el género en una muestra de sangre las clasificamos en dos tipos: métodos microscópicos y métodos inmunológicos.

Métodos microscópicos. Uno de los métodos de microscopía para determinar el género es el citodiagnóstico in situ.

Citodiagnóstico in situ.-El estudio microscópico de la mancha de sangre puede ofrecer datos ciertos para su identificación y permite decir no sólo que la mancha es de sangre, sino cómo son los caracteres de los glóbulos (nucleados, forma, tamaño) y si pertenecen a mamíferos u ovíparos⁴⁶.

6.8.2. Reacción de Uhlenhuth o precipitinas

Fue desarrollada En 1901 por Paul Uhlenhuth, un inmunólogo alemán. Un animal contiene y puede tolerar sólo un tipo de proteína. Si se le inyectan proteínas de otra especie, como la humana, se pone en acción un mecanismo de respuesta inmunológica: genera anticuerpos específicos que se unirán a las proteínas extrañas, dando como resultado macro-complejos en forma de redes tridimensionales.

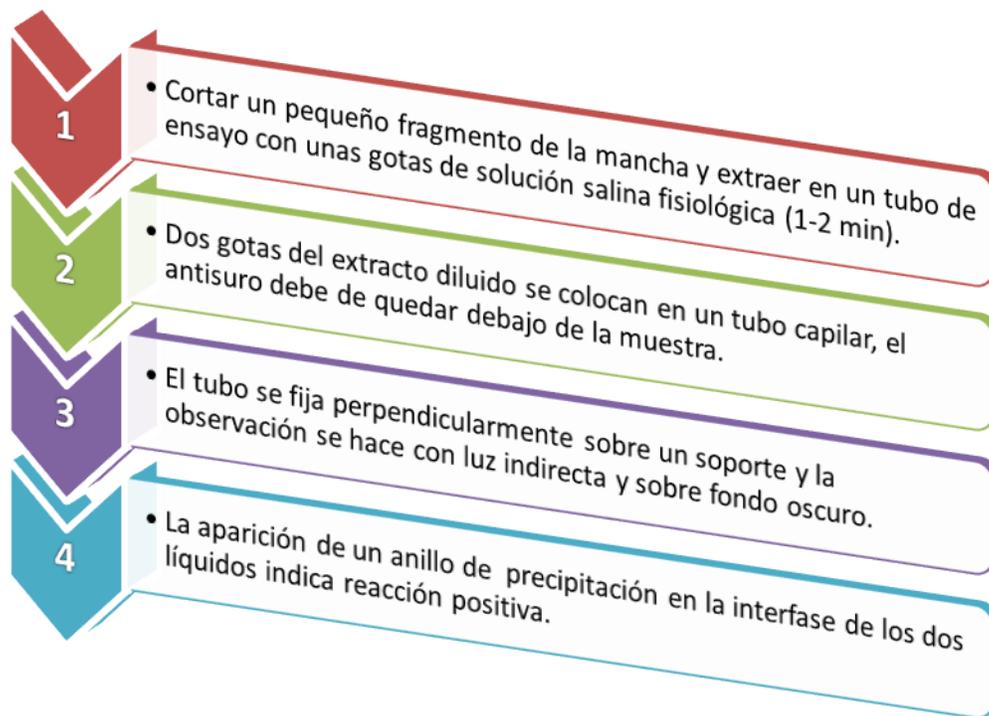
La prueba del anillo o interface es una simple pero sensible forma de la reacción de precipitación. Pequeños tubos o tubos capilares son utilizados para conservar antisuero; la solución del antígeno es cuidadosamente colocada sobre el antisuero sin mezclar. La formación de un anillo visible de precipitación en la interface entre el anticuerpo y el antígeno puede ocurrir en unos cuantos minutos. Este método a menudo da resultados rápidos pero da poca información con respecto al contenido de anticuerpos del antisuero. Los resultados positivos también se ven afectados por los títulos del anticuerpo así como muchos otros factores. De este modo se generan conglomerados de alto peso molecular que decantan de la suspensión.

Fundamento

La determinación de sangre humana se sustenta en que la inmunoglobulina reacciona con la proteína soluble del antígeno para formar un precipitado visible, que está influenciada por las fuerzas de Van Der Waals, puentes de hidrogeno, interacción de dipolos, atracción entre antígenos no polares y la superficie del anticuerpo y la atracción electrostática en varias etapas. Inicialmente se forma el complejo antígeno-anticuerpo (en igualdad de concentración) soluble que empieza

a unirse como red de moléculas de anticuerpo bivalente y moléculas de anticuerpo polivalente que crece para formar partículas insolubles de gran tamaño que permiten un precipitado visible. La reacción puede observarse en la interface entre dos líquidos en un tubo de ensayo, en un capilar o sobre gel por la difusión entre las partes reaccionantes, o por medio de electroforesis, pero deberán tener en cuenta la edad y el grado de putrefacción en la degradación de proteínas. El lavado de manchas de sangre con agua y jabón o detergente, interfiere en las reacciones positivas con la presencia de sales de sodio o sulfonatos; el ácido tánico y las proteínas séricas también pueden producir falsos positivos⁴⁵.

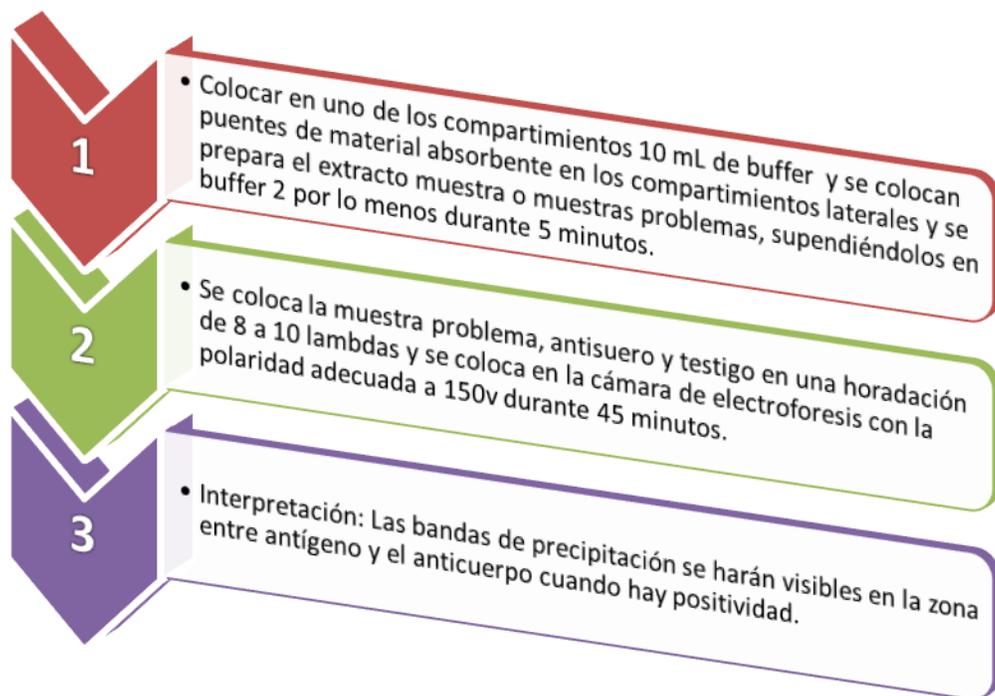
Procedimiento de la Técnica precipitinas



6.8.3. Precipitinas por inmoelectroforesis

El antígeno emigra anódicamente y el anticuerpo catódicamente durante la aplicación de una corriente eléctrica sobre una placa de agarosa en donde se hacen perforaciones pares, colocando el antígeno (sero albumina α y β globulinas) y el anticuerpo (y globulinas); terminada la electroforesis se observan bandas visibles de precipitación entre las perforaciones pares de los materiales específicos⁴⁷.

Procedimiento Precipitinas por inmoelectroforesis



6.9. Determinación del grupo

El grupo sanguíneo es un sistema de clasificación de la sangre humana basado en los componentes antigénicos de los glóbulos rojos. El más importante de los diversos sistemas de clasificación de la sangre es el del grupo sanguíneo ABO. Los cuatro tipos sanguíneos que se contemplan en esta clasificación son el A, el B, el AB y el O.

La determinación del grupo sanguíneo en la práctica forense aporta a los tribunales, en no pocas ocasiones, elementos de prueba muy importantes para señalar si una mancha de sangre recogida del lugar de los hechos puede provenir de la víctima o bien del victimario; o con mayor certeza indicar que no puede haber analogía entre la sangre encontrada y la de la víctima o la de su presunto agresor.

6.9.1. En sangre fresca

Fundamento

La presencia o ausencia en los eritrocitos de los antígenos del grupo A y B, determinan los cuatro grupos del sistema: A,B, AB u O(ausencia de A y B) Existen la presencia de anticuerpos A y anti B, en el suero de los individuos cuyos eritrocitos no contienen el correspondiente antígeno o aglutinógeno y que se presenta en la figura 26.

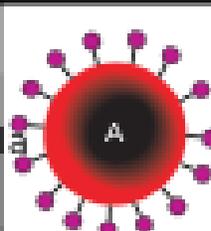
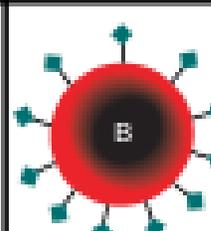
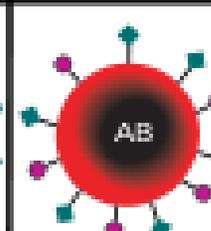
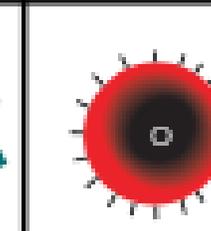
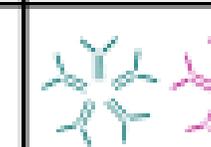
	Grupo A	Grupo B	Grupo AB	Grupo O
Sangre roja célula				
Anticuerpos	 Anti-B	 Anti-A	Ningunos	 Anti-A y Anti-B
Antígenos	A antígeno	B antígeno	A y B antígeno	No antígenos

Figura 26. Presencia de antígenos en los eritrocitos⁴⁷.

Metodología en la determinación del grupo sanguíneo en sangre fresca:

En vivos: se obtienen 5 mL de sangre venosa, se separa el suero por centrifugación y se suspende el paquete globular al 2 por ciento en el propio suero para efectuar determinación en tubo de ensayo y al 5 por ciento para determinación en placa.

En cadáveres: se obtienen 5 mL de sangre no contaminada de cualquier vaso o de cavidad cardiaca, se centrifuga para separar y lavar el paquete globular tres veces con solución salina, desechando el sobrenadante y hacer una suspensión al 2 por ciento en solución salina para la determinación en tubo de ensayo y al 5 por ciento para la determinación en placa.

En coágulos: exprimir contra las paredes del tubo el coágulo con la ayuda de con aplicador para lavarse con solución salina tres veces lo extraído y hacer las suspensiones al 2 y 5 por cierto para la determinación en tubo y placa.

Determinación:

Se coloca una gota de suero anti-A en el tubo marcado "A" una gota de suero de suero anti "B" en el tubo B, una gota de lecitina anti-AB en el tubo de AB; una gota de Rh en el tubo marcado Rh, añadir una gota de eritrocitos al 2 por ciento. A cada tubo y se mezclan y centrifugan durante 15 segundos a 3,400 RPM para los 4 primeros tubos y 90 segundos para el Rh.

Se agita suavemente para desprender el botón globular y se observan al microscopio la presencia o ausencia de aglutinación.

Para la determinación en placa se siguen los mismos procedimientos básicos con una solución de eritrocitos al 5 por ciento sobre una placa de cristal y se observa la aglutinación presente o ausente⁴⁸.

Procedimiento para la determinación del grupo sanguíneo en sangre fresca

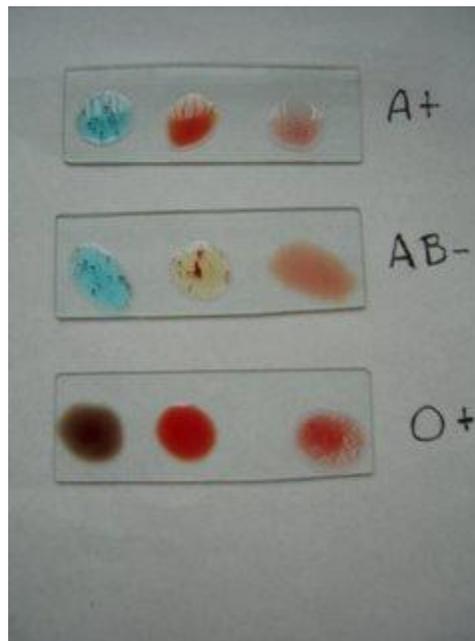
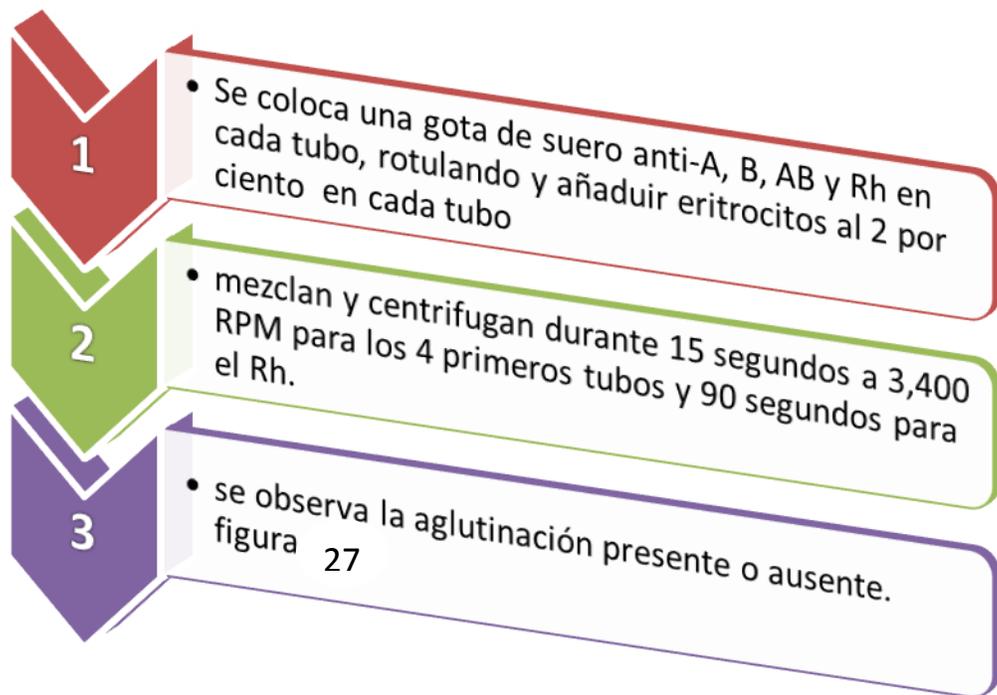


Figura 27. Determinación de grupo sanguíneo en placa⁴⁸.

6.9.2. Determinación del grupo en sangre seca

Principio: en estas circunstancias, los eritrocitos se han roto, por lo que no es posible las pruebas de aglutinación directa, sin embargo los antígenos del sistema ABO conservan cierta capacidad de combinarse con anticuerpos específicos con formación de antígeno-anticuerpo usando en la detección de antígenos en el estroma de las células rojas en manchas de sangre seca mediante el método de absorción-inhibición o absorción-elusión.

6.9.2.1. Absorción- elusión

Se conoce con este nombre en referencia a los dos procesos sustanciales que se ponen en juego durante la prueba, esto es, la absorción de los anticuerpos componentes de los hemoclasificadores por parte de los determinantes antigénicos de grupos retenidos en hilos de gasa y su elusión posterior por acción del calor.

Mediante este método es posible la detección de los antígenos eritrocitarios que se estudian en la especialidad, con pequeñas modificaciones en función de si los anticuerpos son naturales o inmunes, completos o incompletos.

Fundamento

Tiene su fundamento en la absorción específica entre la mancha problema y su anticuerpo homólogo; después de que la absorción es completa, el excedente de anticuerpo se elimina por medio de lavados con solución salina fría. El complejo antígeno- anticuerpo se disocia por calentamiento, el anticuerpo eluido se pone en contacto con eritrocitos lavados de propiedades antigénicas conocidas y finalmente la aglutinación indica la presencia de un antígeno de la misma especificidad que el de las células usadas como testigo conocido y es más satisfactoria para la determinación del grupo ABO.

Se usa paralelamente para la determinación del grupo en manchas de sangre o como método de elección para la determinación de los grupos de saliva, líquido seminal y fluidos orgánicos en los que el antígeno se encuentra en forma soluble⁴⁹.

Procedimiento para la técnica de absorción – Elución

Cortar fragmentos de tela de algodón estéril de 1.5 mm², impregnadas de solución salina y colocar en la mancha problema, que se colocará en la gradilla “problema” y en otra gradilla se colocarán fragmentos de la tela en las mismas condiciones impregnadas con sangre de un grupo conocido marcándola en gradilla de “testigo” y otra serie de tubos con la tela no maculada y se colocará en la gradilla como control.

Se cubren con metanol las telas manchadas hasta cubrirlas durante 15 minutos por lo menos y eliminarlo completamente. A cada tubo se agregan dos gotas del suero que corresponda, se deja refrigerar, se lava 6 veces con solución salina hasta obtener una solución clara e incolora. Se añade a cada tubo 2 gotas de solución salina a temperatura ambiente, se coloca a 56 grados Celsius a baño maría durante 15 minutos; se sacan con cuidado los fragmentos de tela para agregarles una gota de glóbulos lavados y diluidos al 2 por ciento. Se centrifuga a 3,400 RPM y se observa si existe o no aglutinación⁵⁰.

6.9.2.2. Determinación del grupo del sistema ABO en manchas de sangre por absorción-inhibición

El material antígeno se coloca en contacto con su anticuerpo homólogo a fin de efectuar la absorción específica; el anticuerpo en el sobrenadante se observa con eritrocitos de propiedades antigénicas conocidas por lo que se tendrán siempre testigos del grupo conocido⁵¹.

Fundamento

Esta técnica se utiliza para determinación del grupo sanguíneo en manchas de sangre seca, se basa sobre la detección de antígenos que están presentes en la membrana del glóbulo rojo, lo cual se une con el anticuerpo y por calentamiento de la muestra se rompe la unión anticuerpo-antígeno y entonces al agregar las células rojas conocidas de los grupos sanguíneos normales se ve la aglutinación que forman⁵².

Preparación:

Solución buffer pH 7.2: solución de fosfatos ácido de sodio Na_2HPO_4

Sueros:

- Anti A: diluir 3.5 mL de suero con 450 mL de buffer
- Anti B diluir 1.0 mL de suero en 450 mL de buffer
- Anti D: se utiliza sin diluir

Células conocidas:

Lavar tres veces con buffer a los eritrocitos conocidos del grupo O, A y B y hacer una suspensión al 2 por ciento

Procedimiento

Colocar en fragmentos de 3 cm de tela impregnada de la muestra problema en tubos en hileras de anti A, anti B y anti D, agregar 3 gotas de los sueros en cada uno.

Interpretación:

O= no aglutinación de anti A y anti B

A= aglutinación anti B, pero no Anti A

B= aglutinación Anti A, pero no anti B

Rh= aglutinación en anti D

6.10. Diagnóstico del sexo del individuo de quién procede

Se aplica la técnica descrita por Zech en 1969 y que se basa en la tinción con quinacrina de la porción distal del cromosoma "Y", con lo que se consigue una fluorescencia característica. Phillips y Gatén, en 1971, utilizaron este procedimiento con fines forenses. Sin embargo, posteriormente se ha comprobado que existen casos de cromosomas "Y" que no presentan luminiscencia, por lo que la técnica no permite afirmar con seguridad el sexo del individuo, ya que se puede obtener un resultado falso negativo en el caso de que la sangre sea antigua, o, como ya hemos indicado, cuando pertenezca a un individuo con fluorescencia "Y" negativa⁵³.

6.11. Antigüedad

La pretensión de determinar la antigüedad de una mancha de sangre ha sido siempre bloqueada por la acción diversa de los factores climatológicos, del soporte y fenómenos microbiológicos, por lo tanto el perito podrá solo opinar acerca del posible tiempo transcurrido o precisar si una mancha es más antigua en comparación con otra²⁵.

Los siguientes son elementos de estudio que sirven de base para determinar la antigüedad de una mancha de sangre: el color es uno de los factores a considerar, la sangre puede ser venosa o arterial, ya fuera del cuerpo se va oscureciendo hasta llegar al café oscuro al cabo de unos 10 días, para luego hacerse casi negro en tiempos más prolongados.

El brillo de las manchas secas se va perdiendo poco a poco conforme pasa el tiempo, la propiedad de coagulación de la sangre se efectúa dentro de un tiempo aproximado de tres a ocho minutos, el tiempo de secado para una gota de sangre en una habitación se calcula en una hora y de 12 a 36 horas para un charco.

A pesar de ello Simonín, establece una tabla denominada “Código Universal de Colores” cuadro 2, donde muestra cómo varía el color de una mancha hemática en función del tiempo transcurrido, con las salvedades y aclaraciones que anteceden respecto a los numerosos factores que inciden en ello⁵⁴.

Cuadro 2: Código Universal de Colores.

TIEMPO TRANSCURRIDO	COLORES OBSERVADOS
00 horas	Laca Geranio
01 horas	Rojo Grosella
02 horas	Sangre de Buey
03 horas	Púrpura Granate
04 horas	Rojo Moreno
02 a 04 días	Laca Quemada
05 a 15 días	Rojo Pálido
03 a 04 semanas	Rojo Sanguíneo
02 meses	Acacial
06 meses	Tierra Sombra

Fuente: Simonín Camille. "Medicina Legal Judicial" 1973.

La solubilidad de las manchas secas de la sangre, conforme pasa el tiempo presenta variaciones, en los primeros días se disuelven con facilidad en agua o suero fisiológico pero después de más días la disolución se torna más lenta, después de varias semanas puede disolverse en solución al 2 por ciento de hidróxido de potasio y al paso de varios meses la solución de potasio tiene que incrementarse al 33 por ciento para que disuelva la mancha.

Existen otras técnicas fundamentales en los cambios químicos que sufre la hemoglobina, transformándose en hemocromógeno, o en hematoporfirina en el caso de sangres muy antiguas y que son detectadas con el empleo de espectroscopia de resonancia electrónica del spin, técnica no destructiva que sólo requiere 20 a 250 µg de muestra, pero los exámenes más avanzados son a base de radio inmunoensayos.

6.12. El lugar del hecho

Está relacionado con la comisión del delito en algunas de sus fases y en el que debe haber quedado alguna huella o signo del autor o de algunas de las características del hecho. Hay quienes también lo denominan como escena del crimen, escena del hecho, escenario del delito, siendo recomendable citarlo como lugar de los hechos⁵⁵.

Esta definición nos indica que no tiene porqué ser único. Se denomina escena del crimen primaria al lugar donde se encuentra el cadáver (o cuerpo del delito), ya que suele ser donde se inicia la investigación.

Sin embargo, puede haber dos o más escenas del crimen denominadas escenas secundarias, y suele estar en relación con:

- Lugar desde donde se trasladó el cadáver.
- Lugar donde se produjo el ataque.
- Lugar donde falleció la víctima.
- Lugar donde se descubre cualquier indicio.
- Vehículo usado para transportar el cuerpo.
- Puntos forzados para entrar.
- Rutas de huida.

La Búsqueda de las manchas debe hacerse con sumo cuidado sobre el cuerpo de la víctima y el cuerpo del victimario si éste se ha capturado, sobre el piso del evento lo que incluso debe incluir uniones de mosaicos y pisos, sobre paredes y muebles y sobre el arma incluida en el evento si ésta está disponible. Se deben registrar las manchas desde diferentes ángulos de visión y distintas intensidades de iluminación, esto debido a que muchas manchas de sangre no son vistas de manera normal y la aplicación de luminosidad puede revelarlas.

Además de ello no se debe olvidar que en cualquier hecho criminal existe lo que llamaremos una escena primaria que es la escena donde se comete el hecho criminal pero en muchos casos también existen una o más escenas secundarias las cuales pueden estar relacionadas con un lugar desde donde se trasladó el cadáver, el lugar donde se produjo el ataque, el lugar donde falleció la víctima, el lugar donde se descubrió cualquier indicio, el vehículo desde donde se transportó el cuerpo y la ruta de huida. Cada una de estas escenas criminales debe de examinarse con la misma meticulosidad que la escena principal.

6.13. Levantamiento, embalaje y traslado de las muestras al laboratorio

En una sociedad tan compleja como la nuestra, en donde cada día tenemos menos testigos dispuestos a testificar, la evidencia física relacionada a los fluidos corporales tiene un valor incalculable. Por eso, es tan importante que los investigadores forenses sigan los procedimientos establecidos para garantizar que las muestras levantadas en la escena no se contaminen o destruyan, perdiendo así su valor probatorio¹⁶.

Mientras más conserven sus características originales más fácil y confiable será el trabajo de los especialistas en Química forense. Se podrá lograr la identificación del sospechoso, la evidencia será admisible en los tribunales, se logrará la convicción y castigo del verdadero autor del delito.

Son muchos los que desean trabajar como investigadores forenses; pero son pocos los que tienen las cualidades necesarias para seguir los procedimientos establecidos para recolectar y embalar adecuadamente la evidencia de fluidos corporales en la escena del crimen.

Se pueden adiestrar y proveerles las herramientas necesarias para realizar un trabajo de excelencia que garantice el cumplimiento de la justicia.

La muestra de sangre debe tomarse líquida o sólida o en forma de manchas secas o unidas a otras partículas. Su color puede variar dependiendo del lugar en donde ha estado expuesta. Se debe tomar en consideración que también se descompone.

Para recoger muestras de la sangre del sospechoso, la misma se extrae y se deposita en tubos de ensayo que contienen anticoagulantes.

Recomendaciones para levantar la evidencia en el lugar de los hechos⁵⁰:

1. Proteger la escena.
2. Localizarlas (inspección ocular).
3. Fotografiarlas cuidadosamente: acercamiento, por secciones, a distancia.
4. Grabar en video y ubicar su posición en el croquis.
5. Levantarla y embalarla cuidadosamente.
6. Transportarlas al laboratorio inmediatamente.
7. La sangre seca se recoge con un papel absorbente.
8. Objetos pequeños que contengan sangre se llevan al laboratorio.

El investigador forense debe poder identificar los patrones que establecen las manchas. Éstos son el resultado de la transferencia de la sangre líquida, cuando ésta entra en contacto con una superficie húmeda o mojada. El estudio de los patrones incluye:

1. Localización de la mancha y descripción de los patrones.
2. Cómo se crearon las manchas.
3. Dirección en que viajaron las gotas.
4. Origen.
5. Objeto utilizado durante el ataque.
6. Cantidad de heridas.
7. Presencia del sospechoso en la escena.
8. Posición de la víctima, el sospechoso y los objetos durante la comisión del delito.
9. La secuencia de los eventos.

6.14. Recomendaciones para recoger indicios

1. Se deben documentar todas las manchas de sangre durante la investigación preliminar.
2. Los proyectiles pueden contener restos de tejido y sangre.
3. Para extraer una muestra de la sangre seca, se puede utilizar una navaja de afeitar. Hay que desinfectarla aunque sea nueva.
4. Se coloca un papel limpio, previamente doblado y pegado con cinta adhesiva, debajo de la mancha, de modo que se reciba la costra al ser raspada. Luego se dobla el papel y se guarda en un sobre sellado.
5. Si la sangre cayó en tierra y fue absorbida por ésta, se debe recoger una cantidad suficiente para obtener toda la sangre. Se coloca en un envase de vidrio o plástico, se sella y se anota la información necesaria. Esta muestra se tiene que enviar rápidamente al laboratorio para evitar que las bacterias y moho de la tierra destruyan el valor de la prueba.
6. La ropa de las personas y la de cama, cuando están húmedas, deben ser envueltas de manera que no pasen a las partes limpias de la prenda. Para evitar la transferencia se puede colocar un trozo de papel limpio entre cada capa de tela. Esta evidencia puede contener también pelo, vello púbico, fibras o manchas de semen¹⁴.

Precauciones durante la recolección y envío de muestras

6.14.1. Protección del personal

Las muestras biológicas potencialmente pueden contener agentes patógenos (VIH, hepatitis, meningitis).

Evitar contacto con la muestra mediante uso de guantes, mascarilla y bata.

Si es posible emplear material desechable.

Prohibir comer, beber o fumar durante el proceso de recolección.

Recomendar la vacunación al personal que trabaje con este tipo de muestras.

6.15. Protección de la muestra

Contaminación por material biológico humano:

Se debe a la aparición en el propio indicio biológico de un aporte de material biológico humano ajeno al propio indicio. Produce como resultado la mezcla de perfiles genéticos.

Contaminación anterior o previa: Se debe a la aparición de material biológico en el lugar donde luego aparecerán los indicios. Es inevitable y generalmente dificulta la valoración de la prueba.

Contaminación paralela: El material genético de un indicio se mezcla con ADN de otro origen en el momento de los hechos. Es inevitable y favorece la valoración.

Contaminación posterior: Debido al depósito de material genético de diversos orígenes en el indicio con posterioridad al momento de los hechos. Es evitable mediante estrictos protocolos de recolección, embalaje y envío de las muestras, que se detallan en el presente documento.

Transferencia de indicios biológicos

Traslado accidental de los indicios de un lugar a otro, ocasionando contaminación o pérdida de la muestra (por ej. pelos)¹⁹.

Contaminación Biológica De Origen Humano

Este tipo de contaminación se produce por la presencia, en la escena del delito o en el cuerpo de la víctima, de indicios biológicos no relacionados con los hechos y puede ser anterior o posterior a la producción de los mismos.

La contaminación biológica anterior a los hechos

Se debe a la presencia de material biológico humano previo a la producción del delito, por lo que es inevitable. Suele ser frecuente en algunos tipos de muestras como p. e. las toallas o los paños de cocina, que son muestras en las que por su propia función suelen encontrarse restos de células epiteliales, manchas de sangre, sudor etc. Otras muestras en las que también es frecuente que exista una contaminación previa a los hechos son las tapicerías, alfombras, fundas de asientos en los coches etc. Por ello es muy importante establecer el valor de los indicios recogidos en este tipo de muestras y de los resultados obtenidos a partir de ellos. En el cuerpo de la víctima también podemos encontrar material biológico anterior a la producción de los hechos realizados por la víctima.

La contaminación biológica posterior a los hechos

Se debe al depósito de material biológico humano con posterioridad a la producción del delito, por lo que puede ser evitable. Este tipo de contaminación puede estar producida por personas ajenas a la investigación como curiosos, familiares, testigos etc. Es relativamente frecuente ver, en la escena del crimen, a familiares fumando o a testigos reproduciendo los hechos y tocando pruebas. También, se pueden dar contaminaciones con frutas, verduras u otras sustancias que tienen un parecido similar con la sangre ya sea de color o ser de color más intenso para hacer desaparecer los indicios o cubrirlos para que a simple vista no se observe con el fin de eliminar las pruebas de un hecho.

Los procesos de putrefacción pueden ser inherentes a la propia muestra por efecto de la antigüedad o de las condiciones ambientales, lo cual es inevitable o provocado por un defecto en el empaquetamiento y conservación de las muestras durante periodo de mantenimiento y envío al laboratorio, lo que puede ser evitable. Las muestras más sensibles a este tipo de contaminación son las que contienen indicios húmedos como ropas de vestir o del hogar con grandes manchas de sangre o de orina, los fluidos biológicos que son recogidos con hisopos secos o los hisopos humedecidos que son utilizados para recoger manchas secas en el lugar de los hechos y en el cuerpo de la víctima como manchas de sangre. Para evitar la putrefacción es necesario dejar las muestras secar a temperatura ambiente, en un lugar protegido y una vez secas introducirlas en bolsas de papel o cajas de cartón para su envío.

Contaminación biológica no humana

Producida por microorganismos que acaban degradando el ADN por acción, fundamentalmente de exonucleasas (humedad y altas temperaturas).

Puede ocurrir “a priori” a la recolección de indicios (muestras expuestas a condiciones que favorecen la proliferación bacteriana).

Tras la recolección del indicio si el empaquetado y conservación no es el adecuado. Produce la degradación del ADN y ausencia de resultados, pero nunca la alteración de los patrones genéticos.

Contaminantes físicos y/o químicos

Pueden dificultar algunos de los procesos del análisis genético, fundamentalmente los procesos de amplificación y extracción de ADN éstos pueden ser inherentes a la propia muestra, cuando el producto químico forma parte del soporte o sustrato donde cae la mancha como: tintes, colorantes, pinturas, esmaltes, aceites, o bien, cuando las muestras son sometidas a la acción de productos químicos como ropas lavadas con lejías y detergentes, en estos casos suele ser inevitable, salvo que la mancha afecte a distintos soportes y haya posibilidad de seleccionar alguno

que no haya sufrido este tipo de tratamientos o pueden ser provocados con sustancias del mismo color de la sangre que son mezclas con las manchas o cuando las muestras se envían inmersas en productos conservantes o han sido tratadas con productos como en la utilización de reveladores de huellas dactilares que pueden afectar al análisis de los indicios biológicos.

Transferencia De Indicios Biológicos

Se debe al traslado, normalmente accidental, de los indicios de una localización a otra, lo que puede dar lugar a una contaminación o puede ocasionar la pérdida de una prueba. Los indicios biológicos que sufren con más facilidad este cambio de localización son los pelos.

Precauciones que se deben adoptar para aislar y proteger los indicios biológicos en la escena del delito:

- Usar guantes limpios que deben cambiarse con frecuencia.
- Evitar hablar o estornudar sobre las muestras. Usar mascarilla.
- Usar bata u otro tipo de ropa protectora.
- Utilizar material desechable, siempre que sea posible.
- No añadir conservantes a las muestras a menos que lo requiera.
- Dejar secar a temperatura ambiente previamente a ser empaquetadas.
- Empaquetar por separado las muestras.
- Empaquetar en bolsas de papel o cartón, evitar las bolsas de plástico, que condensan la humedad y favorecen la proliferación de bacterias que degradan el ADN.
- Eliminar todo el material desechable empleado en la recogida de muestras.

6.16. Recolección

Todo trabajo realizado durante la inspección ocular quedaría sin validez si no se completa con la recolección y transporte a los laboratorios las sustancias, huellas, objetos y efectos, como elementos de valor indiscutible en una investigación, y por medio del informe pericial presentarlo ante los tribunales y jueces como indicios o en su caso, como evidencia²⁰.

La heterogeneidad y multiplicidad de sustancias susceptibles de interés a la investigación, hace que el procedimiento de su recolección sea distinto en función de la naturaleza de la muestra. Cada mancha de sangre, sustancia, rastro o huella, requiere una técnica específica y concreta, variando el procedimiento de recolección en virtud del objeto de que se trate y la superficie donde asienta. El perito tiene en este punto oportunidad de poner a prueba su sagacidad, experiencia y creatividad

En el caso de las manchas sospechosas de sangre, una vez que se ha marcado la posición en la que se encontró una mancha sospechosa, el método para la recolección de la misma dependerá de la matriz o soporte sobre la que se encuentre, es decir, dependiendo de la naturaleza del indicio, la recolección se realizará de la siguiente manera²¹:

1. En casos con sangre líquida, es labor del forense realizar las extracciones de sangre, ya sea de cadáveres, o de individuos vivos. Para un buen análisis, se han de enviar 5 mL. de sangre en un tubo perfectamente etiquetado que contenga anticoagulante (EDTA) y preferiblemente refrigerada (4–8 °C). En la etiqueta debe constar al menos la fecha, la localidad, el nombre completo del sujeto al que se le extrajo la sangre y el número de caso o de diligencias. Además, es aconsejable disponer de contenedores aptos para introducir los tubos y evitar así su rotura. Cuando no se dispone de anticoagulante ni de neveras portátiles se puede enviar la sangre en forma de mancha, bien sobre una gasa, tela o papel figura 28. La sangre en forma de mancha se conserva mejor que en su estado líquido cuando no hay posibilidad de refrigerarla.

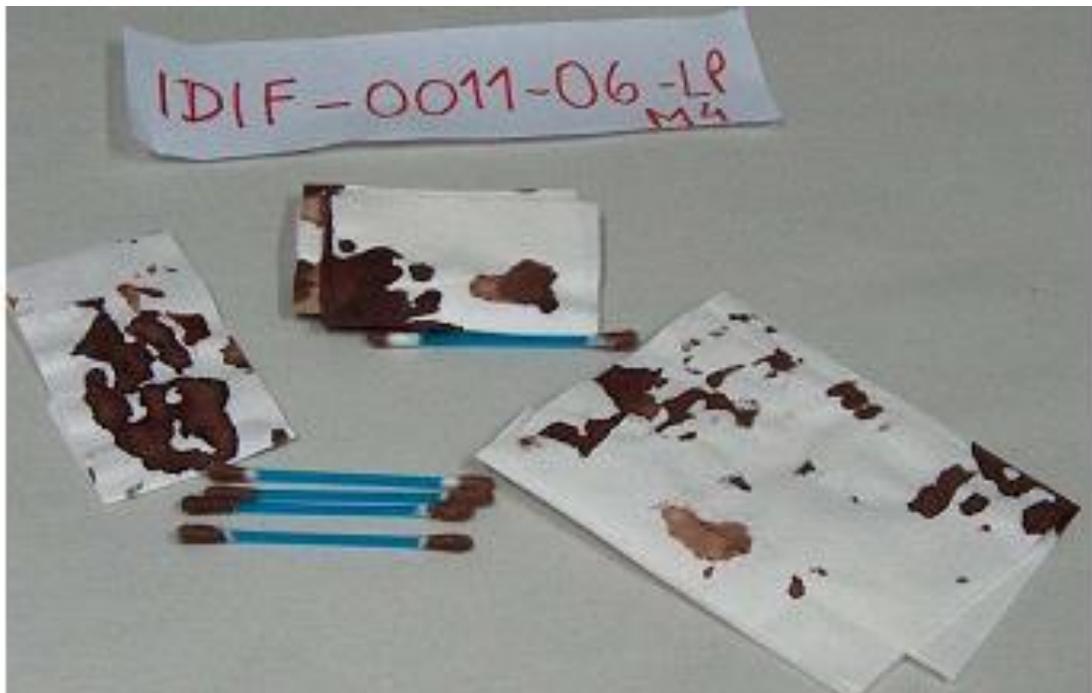


Figura 28. Recolección de sangre, en caso de no contar con contenedor apto con anticoagulante²¹.

2. Si la sangre se encuentra en el suelo, ésta se recolecta con jeringa, pipetas o tubos estériles en un volumen aproximado de 5 mL como máximo o seguir una forma estratégica para levantar lo más que se pueda de acuerdo con el lago hemático. Conservar la muestra a temperatura de refrigeración (sobre geles congelados o hielo) y aislarla de la luz. No congelar.

3. Las manchas de sangre sobre superficies no absorbentes. Cuando la mancha se encuentra sobre una superficie no absorbente forma costras con aspecto de escamas brillantes o agujas figura 29; en manchas recientes las escamas son rojas aunque el color depende más bien del grosor de la costra (a menor espesor el rojo es más acusado); con la antigüedad las costras se van haciendo más oscuras. Si el objeto manchado fuera pequeño se enviará directamente, pero si no fuera posible (pared, suelo, mesa) se recogerá la mancha sospechosa de sangre para su envío⁵⁶.



Figura 29. Evidencias sobre superficies no absorbentes²¹.

4. Existen dos formas de recoger una mancha asentada sobre una superficie:

Mediante raspado: para recoger una mancha mediante este procedimiento es imprescindible que se encuentre en estado sólido, ya seca. Se puede proceder al raspado mediante una hoja de bisturí desechable, recogiendo las escamas en una hoja de papel que después será doblada a modo de papelina y perfectamente etiquetada. Se recomienda esta forma de recogida para manchas muy concentradas (con gran cantidad de sangre ya seca). Si las escamas se introducen en bote o caja de plástico en el laboratorio será difícil recuperarlas porque la electricidad estática hace que se peguen a las paredes. Si la mancha es muy tenue obtendremos muy pocas escamas que se pueden perder durante el proceso de recogida o transporte.

Aplicador de madera con cabeza de algodón con este método se pueden recoger tanto manchas ya secas como todavía húmedas. Si la mancha ya está seca es necesario humedecer ligeramente el algodón con suero salino isotónico (8.5 g por ciento) antes de proceder a su recogida, para facilitar el paso de la mancha desde el soporte donde se encuentra a la torunda.

5. Si la mancha está en una prenda de vestir u otro material similar, aunque sólo fuera una pequeña parte (el cuello o el puño de una camisa) se enviará la prenda completa al laboratorio (Figura 30) pero si la prenda u objeto fuera suficientemente grande (un sofá, un colchón), se recortará la zona manchada dejando un margen de uno o dos centímetros sin mancha. En los tejidos claros las manchas presentan un color rojo oscuro que con el tiempo tiende a oscurecerse más. En los tejidos oscuros las manchas se visualizan mal y las encontraremos sólo por el tacto acartonado que confieren a la tela.

Es aconsejable mandar la prenda bien seca y en bolsa de papel, ya que si se envía húmeda y en bolsa de plástico el proceso de putrefacción se acelera. La muestra se puede dejar secar a temperatura ambiente y evitando su exposición al sol. A veces resulta más difícil obtener resultados en la analítica de manchas con abundante sangre, en las cuales el secado ha sido lento e incompleto, que en pequeñas manchas de sangre donde el secado se ha producido rápida y totalmente, y no ha dado tiempo a que actúen los procesos de descomposición.

Es importante recordar que cada prenda debe empaquetarse individualmente y nunca se han de mezclar prendas que procedan de dos individuos distintos en un mismo sobre⁵⁶.



Figura 30. Evidencias sobre superficies absorbentes⁵⁶.

6. Si la mancha está mezclada con tierra o desechos remover primero por disolución de la mancha en solución salina y cortar una tira larga de papel Whatman No.1 de 1x25 cm. Sumergir un extremo en el material impregnado con la solución salina, y concentrar la solución por la acción capilar en el punto superior del papel. Luego, secar al aire el papel.
7. Si la mancha no es visible puede revelarse rociando el área sospechosa con luminol. Remover y concentrar por la técnica del papel filtro: Colocar la zona manchada sospechosa en un pedazo de esponja humedecida con agua, colocar una tira de papel filtro en la parte superior de la zona manchada. Colocar una placa de vidrio en el papel filtro sobre la mancha con un peso en ella para mantenerla firmemente en contacto con la tela y la esponja. Suspender el final de la tira un poco por encima de la horizontal. La sangre se transferirá hacia arriba y se concentrará al final del papel de filtro por capilaridad.
8. Si se trata de coágulos, levantar con aplicadores de plástico, madera o espátula estériles; utilizar uno para cada indicio y colocarlos en un tubo de ensaye, eppendorf o recipientes estériles. Etiquetar y preservar a temperatura de refrigeración sobre geles congelados.

9. Cuerpo de la víctima, se levantará mediante fragmentos estériles de tela blanca de 2 x 2 cm humedecidos en solución salina al 85 por ciento de las manchas hemáticas de la víctima y aquellas que se sospeche que no sean de su propia sangre, se colocaran dentro de tubos de ensayo estériles y se tomará muestra control de sangre venosa del cadáver y se colocará dentro de un tubo de ensayo estéril con 1 mL de solución salina por cada 5 mL de sangre.

La anterior información se resume en el siguiente cuadro:

Cuadro 3. Recolección y embalaje de diferentes muestras de sangre.

Tipo de muestra	Recolección	Embalaje
Sangre líquida en superficies Firmes.	Recolectar con jeringa o pipeta	Tubos o frascos en refrigeración
Sangre seca en superficies lisas y firmes.	Raspar con navaja u hoja de bisturí	Sobre o bolsa de papel o plástico
Manchas secas en textiles.	Cortar fragmento	Bolsas de papel o plástico
	Humedecer un fragmento en agua destilada o solución salina	Tubos o frascos en refrigeración
Manchas frescas en textiles.	Dejar secar al sol	Bolsas de papel o plástico o proceder como con manchas secas en textiles
Sangre mezclada con tierra, basura, etc.	Remover por disolución con solución salina y concentrar por la técnica de elución	Tubos o frascos en refrigeración
Coágulos	Recolectar con aplicadores de plástico, madera o espátula	Tubos o frascos en refrigeración

Para transportar muestras al laboratorio se necesitan de sistemas de empaquetamiento y preservación de muestras donde es importante mantenerlas y enviarlas refrigeradas y por un medio de transporte rápido cuando se trata de: indicios líquidos, tejidos blandos y órganos, y otras muestras húmedas (que no puedan secarse). En el caso de manchas de sangre seca se envían sin refrigeración.

Todas las muestras contendrán los siguientes datos²⁰:

- Fecha de toma de la muestra.
- Hora de toma de la muestra.
- Lugar de la investigación.
- Ubicación criminalística de los indicios.
- Número de averiguación previa.
- Número de expediente.
- Nombre de quien realizó la recolección.

Para el empaquetado se necesita:

1. Evitar el uso de bolsas de plástico.
2. Emplear cajas de cartón o sobre de papel.

Cada muestra en un recipiente precintado o cerrado herméticamente.

En la recepción de muestras en el laboratorio se debe:

A) Rellenar la hoja de custodia:

Nombre de la persona que entrega las muestras.

Fecha y hora de entrega.

Nombre de la persona que recibe las muestras.

Empresa que realiza el transporte.

B) revisar número de referencia de cada muestra y contrastar con el formulario enviado.

C) Comprobar la integridad de los precipitados.

D) Al abrir los recipientes comprobar que identificación y descripción son correctas.

E) Si fuera posible, fotografiar las muestras.

F) Anotar discrepancias si las hubiera y establecer acciones correctoras.

Las muestras de sangre nunca deben ser expuestas a calor o a humedad excesiva. Si es posible, la evidencia de sangre debe ser refrigerada hasta que pueda ser transportada al laboratorio, o bien, ésta puede ser recolectada en un papel filtro especial llamado FTA²³. La evidencia debe ser llevada al laboratorio tan pronto como sea posible.

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

6.17. Traslado de indicios al laboratorio

Es importante que las muestras se envíen refrigeradas y por un medio de transporte rápido, en los casos de: indicios líquidos, tejidos blandos y órganos, y otras muestras húmedas (que no puedan secarse)¹⁶; se deberán enviar dentro de lo posible toda muestra seca y sin refrigerar.

La muestra debe estar bien identificada con datos como lo son: el tipo de muestra, pertenencia y/o procedencia, y el número de referencia de la muestra o número de Averiguación Previa.

Una vez analizado el indicio, las prendas u objetos de donde se levanta la muestra biológica serán regresados al agente del Ministerio Público anexadas al dictamen y según sea el caso, se dirán por escrito a la autoridad el tipo, y las condiciones de almacenamiento que requiera.

Cuando se solicita apoyo sobre un estudio de genética a otro laboratorio, se deben adjuntar los dictámenes sobre los estudios presuntivos y confirmativos que indiquen la naturaleza de la muestra biológica

6.18. Almacenamiento de los indicios

De acuerdo al Diario Oficial de la Federación, Almacenamiento es el depósito de los indicios o evidencias en los lugares previamente establecidos con características mínimas necesarias, para la conservación de los mismos durante el tiempo necesario y garantizar la cadena de custodia o bien durante el tiempo que sea ordenado por la autoridad competente¹⁹.

6.19. Preservación de la sangre como indicio

La preservación del lugar de los hechos, significa mantener el espacio físico en las condiciones en que las que las dejó el autor del delito.

Con el objeto de garantizar el estado óptimo de los indicios que se encuentran en el sitio donde presumiblemente se cometió un delito, de esta manera se busca preservarlos.

Es importante proteger, aislar y conservar el lugar tal como se encontró, para evitar que se contamine, cambie e incluso extravíe algún objeto del lugar del hecho.

La adecuada preservación del lugar permitirá, a su vez, una correcta fijación, recolección y embalaje de los indicios que son susceptibles de enviarse al laboratorio.

Ese trabajo es fundamental, porque muchos de los indicios sufren una degradación o alteración en pocas horas e incluso minutos al contaminarse.

La causa de dicha contaminación se debe a personas ajenas a la investigación (principalmente a curiosos y familiares) o bien al descuido de las personas que colaboran en las investigaciones (policía preventiva y personal ministerial). En ambos casos, puede ser de forma accidental o por desconocimiento.

Es responsabilidad, pero sobre todo obligación, de cualquier servidor público que arribe al lugar, evitar que se alteren los indicios que se encuentren en el mismo.

Realizarán las acciones y medidas pertinentes hasta que arriben al lugar los peritos. Éstos son los encargados de analizar, fijar, levantar y embalar los indicios relacionados con un delito.

7. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Como puede observarse se realizó una exhaustiva búsqueda de información para poder mostrar aspectos importantes de la metodología para la recolección y preservación de muestras hemáticas en el lugar de los hechos, ya que el presente trabajo tiene como propósito introducir al Químico Farmacéutico Biólogo en el área forense y por ende en el esclarecimiento del delito.

Las manchas producidas por la sangre son las que con mayor frecuencia se encuentran en los delitos contra las personas y constituyen el indicio más constante en las escenas del crimen; de ahí la importancia de efectuar sobre esta evidencia física un estudio eficiente, que sea de verdadera utilidad para el esclarecimiento de los hechos que se investigan.

Aunque, en un principio, pueda pensarse que las manchas de sangre son fáciles de reconocer a simple vista, no siempre es así ya que, según el color y el tipo de material donde se encuentre la mancha o por la antigüedad de la misma, se pueden confundir con otras de procedencia distinta como serían las de manchas de óxido, vino, zumos de frutas, etc. Además el color de las manchas hemáticas puede ser también variable dependiendo de distintas circunstancias. Así, aunque una mancha de sangre relativamente fresca tiene un color castaño rojizo, si se encuentra en capas muy finas puede aparecer de color verde grisáceo; también es difícil encontrar manchas sanguíneas que por acción del sol, el calor, el viento o como resultado de algún intento de hacerlas desaparecer mediante el lavado, hayan adquirido un color que puede variar desde el rojo-castaño al negro; También, el tipo y el color del soporte, sobre el que aparece la mancha, puede hacernos dudar sobre la naturaleza sanguínea de la misma, por ejemplo, en algunos tipos de tela, la sangre penetra en las fibras y en otros no. Por otra parte, a veces son tan pequeñas que resulta muy difícil asegurar su naturaleza mediante la observación.

En cualquier caso, y aunque no hubiera ninguna dificultad en reconocer una mancha como sangre simplemente por observación, siempre es necesaria una verificación de su naturaleza sanguínea en el momento de la reconstrucción de un caso o de ser presentadas como pruebas en un procedimiento legal.

Una vez fijada la escena y encontradas las evidencias que se procederá a llevarlas al laboratorio para continuar con su análisis, se deberá embalar adecuadamente para evitar que se contamine o destruya la evidencia del crimen recordando rotular adecuadamente cada muestra de evidencia encontrada; siguiendo con la cadena de custodia que se refiere a la fuerza o cualidad probatoria de la evidencia. La cual consiste en probar que la evidencia presentada es realmente la que fue levantada o recuperada de alguna forma del lugar de los hechos. Para cumplir con este requerimiento se debe mantener un registro cuidadoso de la posesión y cadena de custodia, asegurándola mediante un sistema de recibos y registro minuciosos, en donde constarán los nombres de las personas que administrativamente o técnicamente han manejado la misma. Esto también significa que las evidencias deben mantenerse en un lugar seguro, protegido de elementos contaminantes y que no se permita el acceso de personal no autorizado a este material.

En el laboratorio se continuará con la identificación y caracterización de la sangre y de otros fluidos corporales que se encuentran en objetos asociados con un delito o en el lugar donde se ha cometido un delito.

Para efectuar la individualización de personas se emplean métodos diversos. Todos son importantes, y no obstante unos sean más efectivos que otros, al aportar datos más infalibles, ninguno debe descartarse, pues en ocasiones el resultado de una identificación plena obedece al uso vinculado de varios de estos métodos.

A grandes rasgos, son cuatro las cuestiones que se plantean en el laboratorio a la hora de identificar manchas:

1. **¿La mancha que estudiamos es de sangre?** Esta parte de la investigación implica la realización de una serie de procedimientos que reciben el nombre conjunto de diagnóstico preliminar. Existen dos tipos de pruebas a aplicar:

- **Pruebas de orientación.** Son muy sensibles pero poco específicas porque además de la sangre, hay otras muchas sustancias que son capaces de dar un resultado positivo al ser sometidas a las mismas, por lo que sólo se puede valorar un resultado negativo.

- **Pruebas de certeza,** que son muy específicas y de menor sensibilidad. Se basan en comprobar la presencia en la muestra de alguno de los componentes de la sangre. Estas pruebas no permiten determinar si la sangre analizada es o no humana. Las técnicas más utilizadas son:

a) Pruebas microscópicas. Consisten en la observación de la mancha por microscopio. Se pueden realizar por examen directo de la muestra, o también sometiéndola previamente a un proceso de aislamiento y tinción de los hematíes y leucocitos.

b) Métodos cristalográficos o microquímicos. En estas pruebas, se somete a la mancha a la acción de distintos reactivos, para obtener determinados derivados de la Hemoglobina. Estos derivados forman cristales de colores y formas característicos que pueden ser identificados por observación con un microscopio y permiten asegurar la naturaleza sanguínea de la muestra que se está analizando. Las dos técnicas más utilizadas son la de Teichmann para obtener cristales de clorhidrato de hematina, y el método basado en la obtención de cristales de hemocromógeno, utilizando el reactivo de Takayama.

c) Examen luminiscente. En esta técnica se estudia la mancha que se quiere identificar con la luz de WOOD. En un primer paso se ilumina la muestra directamente. A continuación, se le añade unas gotas de ácido sulfúrico concentrado y se vuelve a examinar a la luz de WOOD. Se puede decir que la mancha que estudiamos es de sangre siempre que en la observación directa no se observe luminiscencia, pero al volver a realizar el examen con la luz de WOOD después de haber tratado la muestra con ácido sulfúrico, se pueda ver una luminiscencia roja.

c) Técnicas espectroscópicas, que consisten en confirmar la presencia de sangre en una mancha, mediante la obtención del espectro de absorción de la Hemoglobina y de sus derivados, obtenidos por la adición de diferentes reactivos.

d) Técnicas cromatografías. Se identifica la muestra de sangre mediante cromatografía en papel Whatmann nº 1 o sobre capa fina de gel de sílice utilizando como solvente metanol, ácido acético y agua en proporción 90:3:7

2. **¿Se trata de sangre humana?** A las pruebas que se realizan para determinar si la sangre es o no humana, se les denomina en general, diagnóstico de especie. Los métodos utilizados se basan en la reacción de precipitación que se produce entre los antígenos y los anticuerpos. Las técnicas más comunes son: la reacción de Uhlenhut, el Test de Ouchterlony.

3. Una vez que se ha comprobado que la sangre es humana, se intenta determinar a qué grupo pertenece. En algunos casos, se podría conseguir la identificación del individuo del que procede. En principio las pruebas que se realizaban estaban basadas en la obtención del grupo sanguíneo al que pertenece la sangre a analizar. Las técnicas más utilizadas son la técnica de Lattes y la de absorción-elución. Actualmente el diagnóstico individual está basado en el estudio del ADN.

La hematología reconstituyente se ocupa de la determinación e interpretación del mecanismo de producción de las manchas. Cada mecanismo de producción tiene imágenes sanguíneas propias que se ven alteradas cualquiera que sea el factor que las produce por las características propias del soporte.

A través del estudio meticuloso de las imágenes (morfología de las manchas) se podrá obtener una información precisa de la forma en que se han producido los hechos. Se podrá determinar posición de la víctima y del agresor, los movimientos realizados en el sitio del suceso, características del traumatismo y violencia empleada, intensidad del traumatismo, arma empleada, movimientos ejecutados con ella, incluso señalar aproximadamente o descartar al autor del delito.

8. CONCLUSIÓN

El presente trabajo se realizó con el fin de proporcionar herramientas teóricas al Químico Farmacéutico Biólogo, ya que se proporcionan, en su mayoría, aspectos teóricos que son útiles en el campo de la investigación química forense y hematológica.

El estudio de las manchas de sangre desde el punto de vista criminalístico nos permite:

Relacionar a la víctima y victimario en el lugar de los hechos, reconstruir un hecho, realizar la identificación de un individuo en asociación a otra serie de pruebas; exclusiones de un individuo de un presunto hecho delictuoso.

La calidad de la muestra es importante en este tipo de estudio, por tal motivo es importante su recolección y embalaje debido a que ésta puede limitar el estudio.

La fijación, descripción, recolección, embalaje, transporte, análisis y preservación son etapas fundamentales en una cadena de custodia que le da validez a todo estudio.

Las pruebas empleadas que se citan en este trabajo se pueden clasificar en presuntivas ó de orientación (técnica de la Bencidina ó Adler, técnica de la fenolftaleína reducida ó de Kastle-Meyer, técnica de la Leuco malaquita verde, técnica de la orto-toluidina, prueba del luminol) y confirmativas (cristales de Hemina ó Teichman, Prueba de Takayama).

Este trabajo monográfico se propone como material de consulta, tanto en instituciones educativas como profesionales relacionados con el esclarecimiento de un presunto hecho delictuoso.

Actualmente, los órganos de justicia requieren de mayor precisión y exactitud en las pruebas periciales relacionadas con la identificación de los indicios, en este caso "La sangre", por lo que una monografía de este tipo es una herramienta muy importante para tal fin.

9. REFERENCIAS

1. Moreno G.R. Introducción a la criminalística. novena ed. México: Editorial Porrúa; 2008.
2. Franco A.M. Apuntes de historia de la criminalística en México. México: Editorial Porrúa; 2006.
3. Julio N. Apuntes de criminalística tercera ed. España: Editorial Tecnos; 2007.
4. Ulloa T. Hematología básica. segunda ed. México: Editorial Massom-Salvat medicina; 2010.
5. Mckenzie S.B. Hematología Clínica, segunda ed. México: Editorial Manual Moderno; 2010.
6. Ruiz A.G. Fundamentos de Hematología, segunda ed. México: Editorial Médica Panamericana; 2008.
7. Hernández A.A. Organización de la membrana eritrocitaria: banda 3, estructura y función. Cuba: Editorial paraninfo; 2012. Disponible en http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0864-02892005000300001&script=sci_arttext
8. Zonderman J. Laboratorio de criminalística. México: Editorial Limusa; 2011.
9. Chen Y.P. Bioquímica de las peroxidasas. E.U.: editorial woodin. S. A; 2006.
10. Gaspar G. Nociones de Criminalística e Investigación Criminal. Argentina: Ed. Universidad; 2000.
11. Ballester S. Frecuencia de los grupos A1, A2 anti, B y O. Cuba: Editorial Hemoter; 2009.
12. Simonin C. Medicina Legal Judicial. España: Editorial Jimns; 2011.
13. Moreno G.R. Antología de la investigación criminalística. México: Editorial INACIPE; 2010.
14. Montiel S.J. Criminalística Tomo I. México: Editorial Limusa; 2004.

15. Buquet A. Manual de Criminalística Moderna. México: Editorial Siglo XXI; 2006.
16. Duran, E. El Peritaje Médico Legal y su Valoración Jurídica. Chile: Editorial Universidad de Concepción; 2007.
17. Diario Oficial de la Federación, Acuerdo A003. Publicación 03 de Marzo del 2010. Disponible en:
<http://www.pgr.gob.mx/Temas%20Relevantes/Documentos/Informes%20Institucionales/4o%20Informe%20PGR%20completo.pdf>
18. Fisher B. Techniques of Crime Scene Investigation. Quinta ed. Nueva York: Editorial Elsevier. 2012.
19. Manual de procedimientos del Laboratorio de Genética Forense de la Dirección de Servicios Periciales de la Procuraduría General de Justicia del Estado de México. 2012. Disponible en
http://www.poderjudicialdf.gob.mx/work/models/PJDF/PDFs/org_dep/semefo/MP_SEMEF_O_Febrero_2010.pdf
20. González R.D. Cadena de Custodia en Criminalística. México: Editorial Porrúa; 2011.
21. Moreno L.R. Los indicios biológicos del delito. México: Editorial Instituto Nacional de Ciencias Penales; 2010.
22. Chipana G. El Policía de Investigación Criminal en el Novísimo Proceso Penal. Lima: Editorial Rivadeneyra; 2011.
23. Sosa J.M. Manual de Criminalística. México: Editorial. Ciencia y Tecnología; 2008.
24. Guzman, C. Manual de Criminalística. Argentina: Editorial La Roca; 2012.
25. Torquemada O. Estudio Morfológico de Manchas de Sangre por Goteo Estático. México: Editorial Mendoza; 2010.
26. Piotrowski E. "Origen, Forma, dirección y Distribución de las manchas de sangre. Perú Editorial. Peru; 2005.
27. Raffoo H. La Muerte Violenta (1ª Edición. 6ª reimpresión) Buenos Aires: Editorial. Universidad; 2004.

28. Mc DONELL H. L. Características del Vuelo y Patrones de la Mancha de Sangre Humana E.U. Department of Justice; 2011.
29. Franco A.M. Hematología Forense. México: Editorial Porrúa; 2008.
30. Lee H. C. Guía para la recolección y preservación de evidencia del DNA. E.U: Departamento de justicia de los Estados Unidos de América; 2005.
31. Negre C.A. ¿Manchas de sangre?: Seguridad en pruebas de orientación. Editorial Cuadernos de Medicina Forense; 2006.
32. Castelló A.F. Critical revision of presumptive test for bloodstains. E. U: Forensic Science Communications; 2007.
33. Culliford B. La examinación y el mecanografía de las manchas de sangre en el laboratorio del crimen, el instituto nacional de la aplicación de ley y la justicia criminal; 2004.
34. Silveyra J.O. Sistemas de Identificación Humana. Buenos Aires: 2ª edición. Ed. La Rocca; 2006.
35. Cox M. A. Study of the Sensitivity and Specificity of Four Presumptive Tests for Blood. E.U. J. Foren. Sci. Vol. 36; 2011.
36. Safersstein R. Chief Forensic Chemist, New Jersey State Police." Forensic science hand book". New Jersey: Editorial Prentice-hall; 2000.
37. Sheehan F.X. Identificación de Sangre Humana. Brasil: Journal Of Chemical Education; 2004.
38. Verdú F.A. Seguridad en pruebas de orientación. México: Editorial Cuadernos de Medicos; 2003.
39. Thorwald, J. El siglo de la investigación criminal. España: Editorial Labor Traducción del alemán por Formosa F; 2009.
40. Vélez A. A. Criminalística general. Bogotá: Editorial. Temis; 2011.
41. Dilbeck L. Use of bluestar Forensic in lieu of Luminol at crimescenes. E.U: journal of forensic identificaction; 2006.
42. Springer E. Detection of dry body fluids by inherent short wave length UV

luminiscence: preliminary results, ForensicSci Inter; 2006.

43. Knight B. Medicina forense de Simson. México: Editorial Manual Moderno; 2008.
44. Nishi K, Reliability of blood grouping of aged blood to direct themagglutination methods and absorption elution method. Japón: Nippon Hoigaku Zasshi. 2005.
45. Rojas N. Medicina Legal. 12° edición. Argentina: Editorial El ateneo; 2002.
46. Pachon Pavón FJ. Nuevas técnicas en inmunohematología forense. Universidad complutense de Madrid, Departamento de toxicología y legislación sanitaria; 2010.
47. Strasinger D.L, Análisis de Líquidos Corporales. Madrid; 2008.
48. Caro P. Manual de química forense. Buenos Aires: Ediciones La Roca; 2009.
49. INACIPE. Manual metodológico para la investigación criminalística de los homicidios de ciudad Juárez. México: INACIPE; 2010. Disponible en <http://www.oacnudh.org/wp-content/uploads/2012/07/Protocolo-feminicidios-20042012-FINAL-2.pdf>
50. Gutiérrez R. Validación de los métodos de las pruebas presuntivas en la investigación de sangre en manchas de sangre y fluidos. España: Editorial Pereira 2004.
51. Slemko J. Serología forense, tipificación forense, tipificación de la sangre. E.U: editorial. Mega links in criminal justice; 2006.
52. Pearson, P.L. Technique for identifying Y Chromosomes in Human E.U: 2007.
53. Simonin, Camille, Medicina Legal Judicial. España: Editorial JIMS; 2007.
54. Sandoval SL. Manual de criminalística. Santiago de Chile: Ed. Jurídica; 2010.
55. Solís O. Recomendaciones para la recogida y envío de las muestras de sangre. España comisaría general de policía científica. Laboratorio de biología / ADN: Madrid. Sociedad internacional de genética forense. 2009