

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN.



**DESCRIPCIÓN DE MÉTODOS PARA LA RECOLECCIÓN DE MANCHAS SECAS DE
INTERES FORENSE E IDENTIFICACIÓN DE SANGRE.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA:

DIANA CASTILLO MÉNDEZ.

ASESOR: MVZ. ÁNGEL GERMAN MARTINEZ SOSA.

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO 2014.



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES
PROFESIONALES
ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUELLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: M. EN A. ISMAEL HERNÁNDEZ MAURICIO
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos a comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Descripción de métodos para la recolección de manchas secas de interés forense e identificación de sangre

Que presenta la pasante: Diana Castillo Méndez

Con número de cuenta: 097204996 para obtener el Título de: Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 08 de septiembre de 2014.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	M. en C. Idalia Carmen Avila Miyazawa	
VOCAL	MFC. Ma. Eugenia R. Posada Galarza	
SECRETARIO	MVZ. Angel Germán Martínez Sosa	
1er. SUPLENTE	M. en C. Tais Nopal Guerrero	
2do. SUPLENTE	QFB. Betsabé Rodríguez Pérez	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

DEDICATORIAS.

Muy especialmente a mi preciosa hija XIMENA.

Por permitirme hacer realidad mis sueños junto a ti, por prestarme el tiempo que te pertenecía para concluir este trabajo y porque con tu luz has iluminado mi vida y haces mi camino más claro.

A mi esposo GERMAN.

Quien ha sido el impulso para la culminación de mi carrera, que con su amor, comprensión, y apoyo incondicional ha sido fuente de calma, sabiduría y consejo en todo momento.

A mis padres MARTHA Y RAFAEL.

Por darme siempre libertad de decisión, el valor de vivir y enseñarme el significado de la perseverancia para alcanzar mi sueño con anhelo y felicidad.....gracias por estar siempre con migo.

A mis hermanos XOCHTL Y CESAR.

Por su apoyo en todos los momentos de mi vida, los amo.

A mi querida amiga NORMA, por su apoyo y por siempre estar cerca.

A PABLO Y MARISOL por sumarse a la fuerza de mi familia.....somos equipo.

Y a mi pequeña RENATA por llegar a nuestra familia y enseñarnos que la vida tiene tantos colores y brillo como un arcoíris.

AGRADECIMIENTOS.

A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO por ser mi casa durante estos años, enseñarme lo fascinante del conocimiento, por abrir mi mente y mis capacidades a un mundo de hermosas posibilidades dándome una formación de calidad.

A MI ASESOR, EL PROFESOR MVZ. ÁNGEL GERMÁN MARTÍNEZ SOSA por haber confiado en mí y haberme otorgado su apoyo.

A LOS PROFESORES que durante toda mi formación académica y para este trabajo me otorgaron sus valiosos conocimientos, orientación y dedicaron su tiempo.

A DIOS por permitirme llegar hasta aquí.

“LA EDUCACIÓN ES EL ARMA MAS PODEROSA PARA CAMBIAR EL MUNDO”.
NELSON MANDELA

INDICE

I.	RESUMEN.....	1
II.	INTRODUCCIÓN.....	3
III.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	5
IV.	JUSTIFICACIÓN.....	6
V.	OBJETIVOS.....	7
A.	OBJETIVO GENERAL.....	7
B.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	7

CAPITULO I

GENERALIDADES	8
1.1. CRIMINALISTICA.....	8
1.1.1. PRINCIPIOS DE LA QUIMICA FORENSE.....	10
1.1.2. APLICACIÓN DE LA QUIMICA FORENSE.....	10
1.1.3. SISTEMAS DE IDENTIFICACIÓN.....	12
1.1.4. INDICIOS Y EVIDENCIAS.....	12
1.1.4.1. CLASIFICACION DE LOS INDICIOS Y EVIDENCIAS.....	13
1.1.5. IMPORTANCIA DE LA SANGRE COMO INDICIO BIOLÓGICO.....	14
1.2. HEMATOLOGIA FORENSE.....	15
1.2.1. INVESTIGACION EN MANCHAS.....	15
1.2.1.1. MANCHAS DE SANGRE.....	16
1.2.2. CLASIFICACION DE MANCHAS SANGUINEAS.....	17
1.2.3. FORMA Y POSICION DE LAS MANCHAS.....	18
1.2.4. COMPOSICION DE LA SANGRE.....	21
1.2.5. ESTUDIO FORENSE DE LA SANGRE.....	23

CAPÍTULO II

TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN Y EMBALAJE DE MUESTRAS SANGUÍNEAS.....	24
2.1. RECOLECCIÓN EN DERRAME DE SANGRE.....	26
2.2. RECOLECCIÓN DE MANCHAS HÚMEDAS.....	27
2.3. RECOLECCIÓN DE MUESTRAS DE SANGRE EN PERSONAS.....	28
2.4. RECOLECCIÓN DE MANCHAS SECAS.....	30
2.4.1. LEVANTAMIENTO POR RASPADO.....	30
2.4.2. LEVANTAMIENTO POR CORTADO.....	31
2.4.3. LEVANTAMIENTO POR DILUCIÓN.....	32
2.5. REMISIÓN DE INDICIOS AL LABORATORIO.....	32

CAPÍTULO III

TÉCNICAS DE ORIENTACIÓN PARA LA IDENTIFICACIÓN DE SANGRE EN MANCHAS.....36

- 3.1. TÉCNICA DE LA BENCIDINA O DE ADLER.....37
- 3.2. TÉCNICA DE LA FENOFTALEINA REDUCIDA O KASTLE-MEYER39
- 3.3. TÉCNICA DE LA LEUCOMALAQUITA VERDE DE HUNT.....41
- 3.4. TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS.....43
- 3.5. LUMINOL.....44
- 3.6. FLUORESCÉINA.....48

CAPÍTULO IV

TÉCNICAS DE CONFIRMACIÓN PARA IDENTIFICACIÓN DE SANGRE EN MANCHAS.....51

- 4.1. TECNICA DE CRISTALES DE HEMINA (TEICHMANN).....51
- 4.2. TÉCNICA DE CRISTALES DE HEMOCROMÓGENO (TAKAYAMA).53

CAPITULO V

TÉCNICAS PARA LA DETERMINACIÓN DEL ORIGEN DE LA SANGRE (PRUEBAS DE ESPECIFICIDAD).....55

- 5.1. TÉCNICA DE LAS PRECIPITINAS EN CAPILAR O TUBO (UHLENHUTH).....57
- 5.2. TÉCNICA DE LAS PRECIPITINAS POR INMUNOELECTROFORESIS O DOBLE DIFUSION60

CAPÍTULO VI

TÉCNICAS PARA LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO SANGUÍNEO EN MANCHAS DE SANGRE.....62

- 6.1. DETERMINACIÓN DE GRUPO SANGUÍNEO.....64
 - 6.1.1. PREPARACIÓN DE MUESTRAS DE SANGRE EN PERSONAS VIVAS.....66
 - 6.1.2. PREPARACIÓN DE MUESTRAS DE SANGRE EN CADÁVERES.66
 - 6.1.3. PREPARACIÓN DE MUESTRAS DE SANGRE EN COÁGULOS.....67
- 6.2. TÉCNICA PARA LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO SANGUÍNEO EN PLACA. ...68
- 6.3. TÉCNICA PARA LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO SANGUÍNEO EN TUBO.70
- 6.4. TÉCNICA DE LATTES.....71
- 6.5. TÉCNICAS PARA LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO SANGUÍNEO DEL SISTEMA ABO EN MANCHAS DE SANGRE SECA.....73
 - 6.5.1. TÉCNICA DE ABSORCIÓN – ELUCIÓN.....73
 - 6.5.2. TÉCNICA DE ABSORCIÓN-INHIBICIÓN.76
- 6.6. TÉCNICA PARA LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO SANGUÍNEO DEL SISTEMA M-N EN SANGRE SECA.77

6.6.1. TÉCNICA DE ABSORCIÓN-ELUCIÓN DEL SISTEMA M-N	77
6.7. TÉCNICA PARA LA DETERMINACIÓN DEL FACTOR R_H EN SANGRE SECA POR ABSORCIÓN-ELUCIÓN.....	78
VI. ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	81
VII. CONCLUSIONES.....	83
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	84
ANEXOS	90
INDICE DE IMAGENES.....	91
INDICE DE FIGURAS.....	92
INDICE DE TABLAS	93

I. RESUMEN.

En el presente trabajo se realiza la descripción y recopilación de las técnicas de identificación utilizadas para analizar una muestra de sangre con importancia en el ámbito forense. Así mismo, hace énfasis en la necesidad de contar con un documento que pueda ser el medio para consultar y agilizar el trabajo dentro del laboratorio, teniendo de esta manera resultados más rápidos y certeros.

Por tanto, se describen las técnicas más frecuentemente utilizadas para el manejo de manchas de sangre de interés forense permitiendo compararlas para mostrar la relación y/o diferencias entre distintas formas de manejar las muestras que puede ser evidencia de un delito y hacer de la toma de decisión un proceso más fácil y certero y por tanto, obtener óptimos resultados.

En el primer capítulo se describe de manera muy general a las ciencias forenses y la importancia de la investigación en manchas como punto clave para la resolución de un delito por ser el componente más común en el lugar de los hechos, componente que tiene vital importancia y el que ha hecho que se implementen técnicas confiables, reproducibles, económicas y de fácil procedimiento.

En el segundo capítulo se describen las técnicas adecuadas de recolección y embalaje de las muestras sanguíneas, así como, su posterior remisión al laboratorio para su análisis y la importancia como técnicas pre analíticas para un resultado confiable.

El tercer capítulo abarca las técnicas para la identificación de sangre en una mancha que se presume sea de sangre, llamadas también técnicas de orientación para identificación de sangre como son: técnica de la bencidina (ADLER), técnica de la fenoftaleína (KASTLE-MEYER), técnica de la leucomalaquita verde de Hunt, luminol, fluoresceína, describiendo su fundamento, preparación y procedimiento en cada una de estas, para posteriormente, en caso afirmativo y como se indica en el cuarto capítulo utilizar las técnicas que prueban que efectivamente se trata de sangre o técnicas de confirmación para identificación de sangre, entre las cuales están la técnica de cristales de hemina (TEICHMAN), técnica de cristales de hemocromógeno (TAKAYAMA), teniendo como finalidad su posterior análisis, todo esto sin pérdida de tiempo.

El quinto capítulo muestra las técnicas utilizadas para determinar el origen de la mancha de sangre, es decir, si proviene de un animal o si es de origen humano, llamadas pruebas de especificidad. Tratándose de técnicas como precipitinas en capilar o tubo y precipitinas por inmunoelectroforésis

Por último, el sexto capítulo presenta las técnicas para determinar el grupo sanguíneo al cual pertenece la sangre de la mancha en estudio, ayudando con la comparación entre el resultado obtenido y la sangre de la presunta víctima y/o culpable, ayudando en la justa resolución de un delito, como es el sistema ABO.

Esperando que esta contribución sea material de apoyo a todos aquellos profesionales interesados en las ciencias forenses implicados en apoyar a la impartición de justicia.

II. INTRODUCCIÓN.

La Ciencia Forense comprende una amplia diversidad de disciplinas científicas que trabajan de manera conjunta, aplicando la ciencia para la resolución de aspectos relacionados con la ley.

La ciencia forense involucra el reconocimiento, identificación, individualización y evaluación del medio de prueba material o evidencia física empleando métodos científicos. Dentro de lo cual se incluye el suelo, vidrio, fibras, cabello y fluidos biológicos, tales como la sangre con el fin de determinar el origen de un resto en un escenario de un hecho criminal mediante técnicas inmunológicas y químico clínicas.¹⁷

La sangre es un líquido compuesto de agua, células, enzimas, proteínas que circula a través del sistema vascular, de la cual, los científicos están interesados en las células rojas por los componentes que residen en su superficie como los anticuerpos y suero con el cual el químico puede determinar la frescura de la muestra de sangre ya que coagula por exposición al aire.

La investigación de las manchas de sangre tiene un papel muy importante dentro de la criminalística por ser las muestras de sangre las evidencias más encontradas en las escenas de un crimen, por lo cual se realiza un sistema de investigación que incluye los siguientes pasos:

- Orientación
- Certeza
- Especie
- Individualidad (grupo, ADN, sexo)¹⁶

El estudio de la sangre es un análisis de comparación entre la sangre encontrada en la escena criminal y la sangre del sospechoso, la sangre es la evidencia más común, conocida y considerada la evidencia más importante en el mundo de la justicia criminal. Puede estar de forma líquida, fresca, coágulo, seca, como gota o mancha en vestimentas, y cada forma implica un método de preservación y de recolección para determinar si es sangre, especie sanguínea y grupo ABO. Por lo tanto, puede ser usada para confirmar o excluir responsabilidades en relación a un hecho criminal.

Las sociedades actuales enfrentan un gran reto: conciliar la seguridad pública y el respeto a los derechos humanos.

Persiguiendo este fin, la criminalística, la química forense, así como otras ciencias coadyuvan de forma importante, ya que con el contenido de las normas constitucionales, legales y su constante evolución, se hace necesario que la investigación y persecución de los delitos se realicen en forma científica; allegando tanto a las autoridades encargadas de la procuración y administración de justicia, como a las partes procesadas, nuevas técnicas y métodos que les permitan conocer la existencia o no del delito y del sujeto activo del mismo.

Por lo anterior, la química dirigida a la rama de las ciencias forenses hoy día adquiere una peculiar importancia en nuestro país, pues es bien sabido que la principal demanda

ciudadana es lograr niveles aceptables de seguridad pública y abatir la impunidad, siempre con un equilibrio del respeto a los derechos humanos.

En el año 2010, según el informe de resultados de la encuesta ciudadana sobre seguridad pública, realizada por la Secretaría de Gobernación, a nivel nacional se tienen registradas ante las agencias del ministerio público de las entidades federativas, 99,349 robos de automóvil (1123/100 mil habitantes); 104.4 robos con violencia a casa habitación; 1279 violaciones (14/100 mil habitantes); en Sinaloa (19.3 secuestros/100 mil habitantes) y 1531 homicidios (17/100 mil habitantes).⁴

Dentro del proceso normal del desarrollo y evolución de una familia, se pueden encontrar situaciones de conflicto y crisis posibilitando un ambiente de interacción fundamentado en estrés y tensión en el grupo familiar, lo que puede desencadenar conductas inadecuadas denominadas violencia intrafamiliar.

En el territorio nacional, durante el año 2010 los servicios médico forenses evaluaron 72,849 víctimas por violencia intrafamiliar. Del total de los eventos, el mayor porcentaje correspondió a casos de violencia de pareja 43,319 (59,4%), seguido por la violencia entre otros familiares 15,990 (21,9%) y se evaluaron 13,540 (18,5%) menores de edad, víctimas de maltrato de todos los reconocimientos hechos por los profesionales médico-forenses. En el 2008 se reportaron 126,869 casos por lesiones personales, según los médicos estas lesiones son las que más se solicita por el sistema jurídico.¹⁶

Sin embargo, de las personas que fueron víctimas de algún delito, el 64.7% no levantó acta ante el ministerio público.

De acuerdo con estadísticas oficiales, se han incrementado los delitos violentos cuyo esclarecimiento requiere de la participación de expertos en la investigación del delito y para ello se valen del estudio de la evidencia recolectada en el lugar de los hechos.¹⁶

Los indicios y evidencias en la escena del delito, pueden encontrarse, en campo abierto, cerrado o vehículos, en los cuales se ha producido una comisión del delito, el cual requiere una investigación, para determinar el registro, búsqueda de indicios y evidencias en la escena, con el empleo de métodos adecuados de acuerdo al campo de acción, los elementos, las muestras o vestigios encontrados, constituyen indicios y evidencias, las cuales constituyen prueba indiciaria, este sirve como un indicador para el esclarecimiento de un hecho determinado, luego de un análisis y estudio minucioso.²¹

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La mayoría de los procedimientos difundidos por los textos especializados para el estudio forense de la sangre, datan de hace varias décadas, por ello actualmente en nuestro país el estudio forense de la sangre implica la ejecución de técnicas presuntivas y confirmativas cuyo desarrollo implica procedimientos laboriosos y generalmente tardados, sobre todo para la confirmación de una mancha hemática, lo que resulta inconveniente en el campo legal en donde la rapidez de una técnica para obtener resultados confiables, veraces y precisos cada vez es una prioridad. Aunque existen trabajos científicos abocados al desarrollo de técnicas para el estudio forense de sangre, no están disponibles fácilmente a los interesados en el tema, con los inconvenientes que para cada tema se requería de un libro específico, el cual no existía en la biblioteca, era muy costoso o la terminología que utilizan no es muy clara. Ante las circunstancias existe una necesidad de que exista un documento que abarca si no todas, la mayoría de las técnicas que estuviera dirigido al estudiante o perito en formación y a todos los profesionales interesados en formar parte de la investigación criminal.

Un manual práctico que pueda ser usado como documento de consulta por el estudiante y que sirva al profesional como auxiliar en su práctica diaria, por lo cual es importante realizar una revisión bibliográfica sobre el tema, y después de evaluar los métodos y técnicas actuales proponer las adecuadas para su aplicación forense.

IV. JUSTIFICACIÓN.

En México, las ciencias forenses han ido creciendo día con día y se van especializando de acuerdo a las necesidades propias de las investigaciones, es por ello que debido a que la información sobre el estudio de los indicios sanguíneos de interés forense, se encuentra dispersa en diferentes documentos, en el presente trabajo se pretende dar a conocer con base en estudios de validaciones anteriores realizados por otros autores, la descripción de la metodología de las técnicas básicas y suficientes que presentan una especificidad, sensibilidad y reproducibilidad adecuadas frente a las diferentes muestras de manchas de sangre, para finalmente ser ajustado a los procedimientos de trabajo en el laboratorio forense y de esta manera apoyar a que el trabajo sea más claro, certero y ágil.

La elaboración del presente trabajo, obedece a la aceptación cada vez mayor de los profesionales interesados en la procuración y administración de justicia, principalmente a los Químicos interesados en usar sus valiosos conocimientos para este fin. Es por ello que este trabajo es una modesta aportación académica para la formación profesional de todos aquellos que, de alguna manera, están involucrados en la procuración e impartición de justicia.

Por lo antes mencionado, el fin del este trabajo es esclarecer en la medida de sus posibilidades, las técnicas que constituyen el examen de sangre como indicio biológico del delito, en el cual se describen las técnicas más frecuentes aplicadas al estudio de estos mudos testigos biológicos, que cuando son examinados con todo rigor científico, nunca mienten.

El presente trabajo aborda la evidencia relacionadas con determinado tipo de delito, haciendo énfasis en la de origen biológico, en particular las de naturaleza hemática

En la actualidad, en los casos que llegan al Laboratorio Forense se busca analizar manchas de sangre siendo el componente más común en las evidencias a procesar, componente que tiene vital importancia y el cual ha hecho que se implementen técnicas confiables, reproducibles, económicas y de fácil procedimiento. Por ello, en este estudio se recopilan y describen las técnicas preliminares en la búsqueda de sangre, técnicas de orientación, técnicas de confirmación, técnicas para determinar el origen de la sangre, enfocándonos principalmente, en la determinación del grupo sanguíneo en mancha de sangre seca.

V. OBJETIVOS.

A. Objetivo general.

Conocer las diferentes técnicas para la recolección de manchas secas de interés forense, identificación de sangre y determinación de grupo sanguíneo, describiendo los fundamentos químicos, reacciones, materiales y métodos empleados en cada una de estas, para elaborar un documento que reúna la información básica necesaria para agilizar de manera acertada el trabajo dentro del laboratorio forense.

B. Objetivos específicos.

- Recopilar y describir las diferentes técnicas para la identificación de sangre en manchas de interés forense.
- Establecer las diferencias entre cada una de las técnicas con el fin de utilizar la técnica más adecuada a cada tipo de muestra sanguínea.
- Conocer el fundamento químico de las técnicas forenses de laboratorio.
- Difundir la importancia de la identificación de víctimas y/o victimarios mediante la sangre.
- Puntualizar conocimientos respecto al estudio de la sangre en el ámbito forense.
- Elaborar un documento donde se reúna la información suficiente para agilizar el trabajo dentro del laboratorio forense.

CAPITULO I

GENERALIDADES

1.1. CRIMINALISTICA.

Existen varias definiciones acerca del término criminalística, no obstante la mayoría, por su antigüedad, consideran a la criminalística como auxiliar del derecho penal, siendo que en la actualidad algunas ramas criminalísticas son utilizadas en el derecho en general.

Por lo anterior, se considera que toda definición debe ser actual, clara, concreta y concisa, requisitos fundamentales para que se entienda y pueda aplicarse en la práctica, por tanto, la Criminalística es la **“Rama de las ciencias forenses que utiliza todos sus conocimientos y métodos para coadyuvar de manera científica en la administración de justicia”**.¹⁶

Las ciencias forenses son la aplicación de prácticas científicas dentro del proceso legal, un conjunto de ciencias que la ley usa para atrapar a un criminal, ya sea física, química, matemáticas, y muchas más. El trabajo de los investigadores forenses es muy extenso, pasando desde la recolección de las evidencias, y el proceso de las mismas, hasta la extracción de muestras de ADN, debates extensos, creación de teorías, comparación de evidencia y varias tareas más.³⁴

Al incluir a la Criminalística en el grupo de las ciencias forenses se le da la calidad científica que se requiere en el mundo de hoy a toda investigación de un presunto hecho delictivo, ya que se menciona que utilizará todos sus conocimientos y métodos; es decir, la aplicación de todas las experiencias aprendidas de otras ciencias, así como los procedimientos que se siguen para hallar la verdad y enseñarla, coadyuvando con esto de manera científica en la administración de justicia, colaborando con la aportación de elementos científicos en la procuración e impartición de justicia.

El objetivo de la Criminalística es encontrar los “indicios”, es decir, el “material sensible significativo” relacionado con los hechos que se investigan, conocidos como “evidencia física”.¹⁶

La investigación científica de un presunto hecho delictivo requiere de la participación multi e interdisciplinaria de la criminalística con las diferentes especialidades: la medicina forense, la criminología, la química y otras ciencias forenses que, dependiendo del caso y del momento histórico de la investigación, colaborarán en dicha indagatoria.

Al ser integrada una averiguación previa, la autoridad solicitará, si lo considera pertinente, la participación de expertos para el estudio de personas, hechos u objetos. Dicho estudio se iniciará en el lugar de los hechos o, en ocasiones, en el lugar del hallazgo y terminará con el análisis de las evidencias en los diferentes laboratorios. Por lo que la criminalística se ha clasificado en:

Criminalística de campo: Esta parte de la criminalística se encarga del estudio, descripción y fijación del lugar de los hechos o del hallazgo, así como del levantamiento y embalaje de los indicios y evidencias ahí encontradas, que posteriormente, serán examinados por peritos en los laboratorios forenses.²⁶

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 inician las primeras investigaciones en la escena del crimen. Esta investigación se divide en 5 etapas:

- Proteger y preservar intacta la escena del crimen.
- Observar todo sin precipitaciones.
- Realizar una descripción escrita clara y precisa, incluyendo dibujo y fotografía forense.
- Levantar y etiquetar la evidencia física.
- Trasladar la evidencia física al laboratorio.¹⁸

Criminalística de laboratorio: Es la parte de la criminalística que utiliza todos los métodos y técnicas de laboratorio para el estudio, análisis e identificación de los indicios y evidencias encontrados en el lugar de los hechos o del hallazgo.

En el laboratorio es necesario contar con áreas específicas, personal altamente calificado y equipo moderno para aportar elementos suficientemente científicos en la investigación.⁴

Las principales áreas que integran los laboratorios periciales son:

Química forense: En esta importante especialidad se aplican todos los conocimientos y técnicas químicas con objeto de conocer la naturaleza de cualquier sustancia o elemento. Su participación en la investigación es multi e interdisciplinaria con otras ciencias forenses.

- Hematología.
- Balística forense.
- Toxicología forense.
- Documentoscopia.
- Física forense.
- Biología forense.
- Geología forense.
- Grafoscopia forense.
- Análisis de voces.
- Genética.
- Incendio y explosivos.
- Dactiloscopia.
- Odontología forense.

- Antropología forense.
- Medicina forense.
- Fotografía forense, entre otras.¹²

1.1.1. PRINCIPIOS DE LA QUIMICA FORENSE.

La química forense es la ciencia que se ocupa del análisis químico de una gran variedad de evidencias físicas para verificar la causa posible de un acontecimiento que pueda relacionarse con algún ilícito, dicha evidencia se examina usando sofisticadas técnicas analíticas teniendo como base el Método Científico Experimental que determinan:

- Qué sustancia (s) o material (es) abarca la evidencia.
- Si la evidencia viene de un individuo particular, de sus posesiones, de su hogar o lugar de trabajo.
- Si la evidencia viene de una localización específica.¹¹

El análisis químico que se realiza a la evidencia encontrada es de tipo analítico. Este análisis ha adquirido importancia al paso del tiempo por la estrecha relación que existe con otro tipo de estudios periciales como son:

- Balística.
- Grafoscopia.
- Incendio y explosivos.
- Genética forense.¹¹

Hematología: En esta especialidad la aplicación de la química es fundamental para descubrir si una mancha que se halló en el lugar de los hechos es sangre y se ésta es de animal o humana; en caso de tratarse de sangre humana se determinara el grupo sanguíneo y el factor Rh.²²

1.1.2. APLICACIÓN DE LA QUIMICA FORENSE.

La Química Forense es otra alternativa a los muchos caminos que puede seguir un químico en el ámbito de la investigación, además de ser una buena opción a la hora de hacer aportes significativos a la sociedad, donde su actuar, junto con su alto nivel de conocimiento analítico y su capacidad de manejo instrumental, es de vital importancia para descifrar las evidencias y contribuir a la búsqueda de la verdad.⁷

Uno de los principios fundamentales en los cuales se rige la Ciencia Forense y específicamente la Química Forense se basa en la premisa de que cuando dos objetos

entran en contacto, habrá un intercambio entre los dos. Es decir, “cada contacto deja un rastro”, frase que popularizó Edmund Locard, padre de la Criminalística moderna, provocando así un giro en la metodología investigativa. Es por esto que el químico forense rastrea este intercambio entre materiales y trae a la luz lo que es invisible a los ojos. Basándose en sus conocimientos y en las tecnologías desarrolladas, tiene la capacidad de rastrear sustancias o huellas que éstas dejan en una escena del crimen. El químico forense, por lo tanto trabaja con sustancias no-biológicas, tales como pintura, vidrio o líquidos, trazas de pólvora provenientes de un disparo, todas las muestras que pueden ser muy bien analizadas mediante métodos analíticos apropiados.⁷

Otro de los campos en que un químico forense puede desarrollarse es en la Toxicología donde principalmente trata con muestras biológicas, orina, pelo, sangre, semen, saliva o contenido gástrico y así poder determinar por ejemplo el nivel de alcohol o drogas que una persona ha consumido.

Entender la evidencia requiere de herramientas provenientes de muchas disciplinas como la Química Analítica, la Biología, Ciencias de los Materiales y Genética. De hecho, el análisis de ADN está haciendo que el conocimiento en genética sea de mucha importancia.²⁶

Con el paso del tiempo la Química Analítica ha adquirido una gran importancia en la investigación criminal, sobre todo a la hora de conocer la naturaleza intrínseca de cualquier sustancia o elemento y más aún, cuando sirve para auxiliar en la investigación científica de los delitos.

Por lo tanto los químicos forenses tienen tres tareas principales: primero, analizar las evidencias en el laboratorio, luego, se interpreta la información que se saca de ellas y por último, se puede llegar a defender lo encontrado, mediante la testificación del químico forense en un juicio.³⁶

La Química Forense es aplicada en una gran variedad de técnicas, tanto cualitativas como cuantitativas, cuya principal finalidad es la búsqueda de respuestas provenientes de las diferentes evidencias que ayuden a la resolución de algún caso criminal como:

- Análisis de drogas
- Análisis de muestras de incendios
- Análisis de huellas
- Análisis de rastros de pintura.
- Análisis de residuos por disparo de arma de fuego
- Análisis de tóxicos y venenos
- Búsqueda de huellas dactilares.
- Detección de manchas de sangre.⁷

1.1.3. SISTEMAS DE IDENTIFICACIÓN.

Los sistemas de identificación son el conjunto de técnicas y métodos empleados con el fin de lograr la identidad (individualización) de individuos, vivos o muertos.

Por identidad se entiende el conjunto de características propias que nos hacen diferentes de los demás. Para lograrla, las ciencias forenses utilizan diversas disciplinas, como la odontología y/o estomatología forense, la antropología física, la dactiloscopia, el retrato hablado, la medicina, la fotografía, la genética forense y la hematología, por mencionar las más comunes.⁶¹

1.1.4. INDICIOS Y EVIDENCIAS.

Desde el punto de vista forense, indicio es “todo objeto o material, 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”.²¹

En lo que respecta a evidencia, la Real Academia Española la define como: “la certeza clara, manifiesta y tan perceptible de una cosa que nadie puede racionalmente dudar de ella”, lo que da pauta para considerarla como un elemento de prueba que ayuda a normar el criterio del juzgador.

Por lo antes mencionado, cabe hacer notar que mientras los indicios son solamente una señal, sospecha o presunción, las evidencias son la confirmación o la certeza; esto es, que una vez que se estudian los indicios que se hallan en el lugar de los hechos puede confirmarse su valor como elemento de prueba y transformarse en evidencia.²¹

Objetivos de los indicios.

Principalmente del examen y del estudio de los indicios se pretende lograr, entre otros, los siguientes objetivos:

- Identificar al o los autores.
- Conocer la cantidad de los mismos.
- Determinar su participación en el desarrollo de los hechos.
- Establecer las vías de acceso.
- Ubicar el tipo de lugar (de hechos o de hallazgo).
- Reunir las pruebas de la comisión de un delito.
- Reconstruir la mecánica del hecho.⁶¹

1.1.4.1. CLASIFICACION DE LOS INDICIOS Y EVIDENCIAS.

Los indicios y evidencias pueden agruparse de diversas formas, dependiendo de su relación con el hecho, su conformación estructural, su facilidad de traslado, su forma de ser producidas, por su tiempo de permanencia, por su forma de ser perceptibles, por su calidad y por su utilidad.³⁷

Por su relación con el o los hechos, podemos clasificar a los indicios en *determinantes*, los que se encuentran directamente asociados con el hecho que se investiga; en *indeterminantes*, es decir, aquellos que después de los estudios se concluye que no tiene ninguna relación con los hechos.

En relación con su conformación estructural, los indicios están agrupados en *físicos*, *químicos* y *biológicos*. Dentro de los físicos se encuentran todas las cosas manejables destinadas a un uso especial; en los químicos, las sustancias naturales o artificiales; los biológicos comprenden los fluidos corporales u otro tipo de tejido humano o animal.³⁷

Con respecto a su facilidad de traslado, las evidencias pueden ser catalogadas en *móviles*, que son las que fácilmente pueden ser llevadas a los diferentes laboratorios para su estudio, y *fijas*, las que no pueden separarse del lugar debido a su volumen, peso u otros factores.⁶

Por la forma de ser reproducidas se clasifican en *intencionales*, las cuales se colocan con el objetivo de crear confusión o distorsionar el hecho; *accidentales*, provocadas independientemente de la voluntad del hombre o como resultado del intercambio de evidencias entre la víctima y el victimario, o de éstos con el lugar de los hechos.

Por su tiempo de permanencia, se cuenta con las evidencias *transitorias* o *percederas* que, tarde o temprano, tienden a desaparecer, y las *definitivas*, porque su tiempo de duración es ilimitado.⁶

La evidencia *latente* es aquella que solamente podrá ser visible por medio de la tecnología forense; *la tangible* es la que puede palparse y ser vista sin necesidad de equipo especial.

En los indicios con características de clase no se cuenta con elementos de comparación o con la cantidad suficiente, por lo que solamente se podrá ubicar en grupos.

En los indicios con características identificadoras, la cantidad y la calidad permitirán identificarlos plenamente, pudiendo relacionarlos con un individuo en particular, o con una fuente de producción específica, en la medida en que hayan sido dejadas mediante el producto de un intercambio, y por sus características de rareza, individualidad, comparación y de probabilidad matemática.⁴⁸

1.1.5. IMPORTANCIA DE LA SANGRE COMO INDICIO BIOLÓGICO.

Uno de los indicios más comunes e importantes encontrados en el lugar de los hechos es la sangre

La investigación de sangre ha tenido gran importancia como posible componente para la solución de casos criminales. Su identificación implica por medio del análisis con pruebas preliminares, de orientación, especie e individualidad (tipificación).¹¹

En las ciencias forenses, las manchas son evidencias comúnmente evaluadas. Por mancha se entiende toda la modificación de color, toda suciedad, toda adición de una materia extraña, visible o no, en la superficie del cuerpo humano, sobre instrumentos, o sobre cualquier objeto, determinada por el depósito de un producto líquido, blando y algunas veces oloroso de cuyo estudio se pueden establecer relaciones de la intervención o participación de una persona o cosa en un hecho delictivo.

La sangre es la evidencia más común y conocida, quizá una de las más importantes en criminología, su presencia en la mayoría de los casos liga generalmente al sospechoso o a la víctima a una u otra escena.¹¹

Los patrones de las manchas de sangre hablan mucho de la posición y del movimiento durante el crimen, qué sucedió primero, de qué manera y cuántas veces. El aspecto de la mancha de sangre varía con la antigüedad, cantidad y el soporte sobre el que recae. En los tejidos absorbentes y claros las manchas recientes presentan un color rojo oscuro, que con el tiempo tiende a ennegrecerse más. Si las manchas han sido lavadas con agua, el color se hace rosa y el pigmento difunde al tejido, si bien de un modo irregular, con lugares más densos que otros. El aspecto de la mancha, como de haber sido lavada, debe poner en guardia al perito, porque las lejías y los ácidos modifican las características estructurales de los componentes de las manchas, dando lugar a causas de error en la investigación.

Para obtener resultados confiables al realizar el análisis a estas manchas de sangre, es necesario contar con técnicas validadas, si esto no se lleva a cabo, podrían generarse grandes prejuicios, no sólo a los sujetos procesales, sino a la institución y al profesional encargado; por lo que en este trabajo se estudian las técnicas tanto presuntivas como confirmatorias para identificar y tipificar una mancha de sangre, contando anterior a su análisis con las técnicas de muestreo más convenientes para cada tipo de mancha, ya que en algunos casos las muestras se encuentran, bien sea, en mínima cantidad, contaminadas o muy diluidas.³⁶

Es así que el estudio de la técnica más adecuada para cada tipo de muestra es fundamental, pudiendo de esta manera implementar su uso de forma rutinaria en el laboratorio forense, logrando así resultados ágiles, óptimos y confiables.

Para alcanzar esto, es esencial demostrar que la prueba propuesta es sensible, específica, con elevados porcentajes de confiabilidad, y por tanto, aplicable para la determinación de sangre humana en manchas de interés forense.

1.2. HEMATOLOGIA FORENSE.

Hematología (hemo = sangre, logos=estudio), es el estudio de la sangre.

La Hematología, es la rama de la medicina que ayuda a individualizar diferentes tejidos, permite determinar los grupos y subgrupos sanguíneos; al igual que la genética, los estudios que se requieren deben ser realizados por químicos, pero interpretados por médicos.

La hematología forense comprende dos ramas: ⁸

- 1) Hematología Reconstructora.
- 2) Hematología Identificadora.

1) Hematología reconstructora.

A través del estudio meticuloso de las imágenes sanguíneas 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.⁸

- En recintos cerrados se inspeccionará cuidadosamente las entradas, salidas, techos, muebles, sospechosos, cadáveres.
- En recintos abiertos se puede encontrar manchas de sangre en arbustos, piedras, pastos, hojas, en la tierra, etc.

1.2.1. INVESTIGACION EN MANCHAS.

Desde hace mucho tiempo se han estudiado con particular empeño los caracteres físicos y las reacciones químicas que proporcionan las diversas clases de manchas, con el fin de lograr su identificación y poner a los peritos en condiciones de satisfacer las preguntas que los jueces les hicieren sobre la mancha en cuestión.

Fue Carlos Rodin, entre otros, quien con sus trabajos dióbase científica a estos conocimientos. Estudiaremos en las manchas sus caracteres físicos, químicos, biológicos y microscópicos.³⁰

Deben describirse lo más completo y claro que sea posible, señalando situación, tamaño, aspecto, número, etc., de cada una de estas manchas.

Como las manchas son modificadas por las condiciones ambientales, es importante estudiarlas lo más rápidamente posible o cuando menos protegerlas para su posterior examen.³⁰

Algunas veces las manchas son demasiado antiguas; en estos casos es necesario agudizar nuestro ingenio para su identificación.

Por ejemplo, mancha de sangre vieja en u vidrio: colocar un pedazo de vidrio manchado sobre una hoja de papel, si es blanco mejor; raspar la mancha con todo cuidado, se recogen estas partículas que aunque pequeñísimas, nos son suficientes para su identificación. Cuando la mancha sospechosa se encuentra en un lienzo, es necesario disolverla primero en un líquido apropiado (suero fisiológico) para su posterior estudio, en ocasiones es necesario deshilar el lienzo para facilitar su análisis.⁷

Entre las manchas que más interesan al perito se encuentran las de semen, calostro, leche, líquido amniótico, orina, materia fecal, por mencionar las más comunes, pero son las manchas de sangre, particularmente las secas, las que estudiaremos en este trabajo, pues son estas las manchas más comúnmente encontradas en la escena del crimen, las cuales nos proporcionan invaluable información para el esclarecimiento de un delito.⁷

1.2.1.1. MANCHAS DE SANGRE.

Las manchas de sangre fresca son fáciles de reconocer, sobre todo cuando se encuentran en lienzos blancos; sin embargo no siempre es así. Cuando por evaporación se desecan y oscurecen, es posible confundirlas con las de tinturas, jugos de frutas, manchas de vino tinto, etc. es por este motivo que el presente trabajo se enfoca en las manchas secas.³⁰

Además, no debemos conformarnos con decir que es una mancha de sangre, sino que debemos especificar si es de sangre humana o animal; lo que constituye uno de los problemas más importantes en la química legal y que es uno de los objetos de estudio en el presente trabajo.

Para ello, contando con pocos datos, podemos sacar provecho al recordar los elementos figurados en la sangre fresca, para después hacer comparaciones con los elementos figurados de otras sangres (animales). Una primera diferenciación, que aunque elemental, es de gran ayuda, es tener en cuenta los diámetros de los glóbulos rojos el humano es de 7.5 milésimas de milímetro, es decir, que en comparación con los diámetros de los glóbulos rojos de sangre de animales, son los más grandes de todos, pues los de perro son de 7.2, los de conejo de 6.9, los de gato de 6.5, los de cerdo de 6.0, los de caballo, toro y vaca de 4.6 milésimas de milímetro; los de las aves y batracios son elípticos¹. Así, con la comparación de los diámetros y sus formas, podemos decir si es o no humana la sangre de que se trate.³¹

Si contamos con más información podemos emplear los métodos biológicos para saber si una mancha de sangre es humana o a que animal pertenece, siendo posible incluso identificar al individuo de quien procede la sangre mediante la investigación del grupo sanguíneo de la mancha y del sospechoso.

1.2.2. CLASIFICACION DE MANCHAS SANGUINEAS.

Se considera imagen hematoscópica, la forma y morfología que presentan los rastros hemáticos.

Los rastros hemáticos deben tener una interpretación morfológica y una clasificación de la siguiente forma:

- Por su morfología pueden ser circulares o alargadas.
- Por su dimensión pueden ser pequeñas, medianas, grandes y muy grandes.
- De acuerdo a sus contornos pueden ser regulares o irregulares.
- Según la cantidad pueden ser lenticulares, charco y lago hemático
- Si proviene de una hemorragia profusa puede presentarse en forma de chorreadura, cuando es arrojada con violencia en pequeñas cantidades, produce rociado o salpicadura, incluso cuando se embadurna una superficie limpia y absorbente, puede presentarse como impregnación o contacto. En cuanto a su mecanismo de proyección, los rastros hemáticos se pueden clasificar de la siguiente forma³¹

Manchas por proyección.

Incluyen las gotas y salpicaduras. Se producen cuando la sangre es proyectada en forma violenta sobre el soporte. Si se precipitan perpendicularmente, presentarán la forma de un disco redondo y, con forme aumenta la altura se van transformando hasta ser gotas independientes. Si las gotas son lanzadas oblicuamente, adquieren la forma de “signos de admiración”, cuya parte más ancha corresponde al punto de origen. En general, las salpicaduras gruesas corresponden a la contusión repetida sobre una superficie sangrante. Las salpicaduras finas se observan generalmente en la mano del suicida que se dispara sobre la sien. La rociadura se produce cuando la fuente productora se desplaza linealmente frente al soporte, ej.: herida arterial y movilización de segmentos corporales o armas ensangrentadas.³⁰

Manchas por escurrimiento.

Cuando el desplazamiento se hace sobre un soporte inclinado se forma el escurrimiento; cuando el soporte es horizontal o presenta depresiones la sangre forma charcos o lagos hemáticos. El soporte puede estar constituido por el cuerpo, suelo o piso, murallas, ropas, etc.

Manchas por contacto.

Rastro hemático producido en el momento en que la víctima toca objetos con sus manos u otras partes del cuerpo ensangrentadas dejando huellas.

El contacto puede ser simple, por ej.: las manchas de sangre de las ropas que están en contacto directo con la herida o cuando la víctima recibe una herida con arma punzocortante en el abdomen que le genera una hemorragia profusa y al tratar de evitar la pérdida de sangre, esta tapa con sus manos el lugar de la herida, luego retira una de sus manos y la coloca en la pared.³⁰

Manchas por arrastre o impregnación.

Se refiere a aquellas en que la sangre fue parcialmente absorbida por un tejido textil. Rastro producto de la absorción del rastro hemático en superficies poco compactas y permeables que empapa sus tejidos con los vestigios sanguíneos. Un ejemplo clásico, sería cuando en una riña, la víctima recibe un fuerte golpe en su nariz, lo cual le produce un sangrado que es limpiado por el afectado con un pañuelo blanco.

Manchas por Mecanismo Mixto.

Entre el contacto y la impregnación: Es el origen de las manchas de la limpieza, por ejemplo, cuando se enjuaga una hoja de una navaja con un trapo absorbente, se producen unas manchas típicas de forma rectangular con soluciones de continuidad y trazos transversales más densos, la intensidad del color decrece progresivamente.³¹

1.2.3. FORMA Y POSICION DE LAS MANCHAS.

- El diámetro de una mancha de sangre sólo tiene valor en la estimación de la distancia de caída cuando éste es inferior a 1,5 metros. Más allá de este valor, la variación en el diámetro es demasiado reducida como para ser confiable.
- El aspecto de los bordes de la mancha sólo es verdadero cuando se tienen en cuenta las características de la superficie sobre la que ha caído la sangre. Son válidas las correlaciones entre manchas desconocidas y patrones, sólo si se usan idénticas superficies de impacto. Cuando más burda y áspera es la superficie, mayor es la posibilidad de que la gota se rompa.⁹
- Cuando las gotas caen perpendicularmente sobre una superficie lisa y horizontal a una distancia menor de 50 cm. su forma es circular con los bordes lisos. Cuando la altura está comprendida entre los 50 y 100 cm. los bordes ya se presentan en forma festoneada; a una altura entre 100 y 150 cm. los mismos son más aguzados, produciéndose proyecciones radiales (o gotas satélites) a una mayor altura.
- Cuando las gotas caen verticalmente sobre un plano liso y oblicuo, las manchas se alargan, tanto más cuanto más agudo sea el ángulo de caída. Su forma, en cambio,

no depende de la altura ni del volumen de la gota. La relación longitud/anchura de la gota permite calcular con aproximación suficiente cual ha sido el ángulo de caída.⁹

Color de las Manchas de Sangre.

- Una mancha seca, pero relativamente fresca, es de un color rojo intenso y de aspecto brillante.
- El brillo desaparece bajo la acción de la luz solar, calor y diferentes condiciones atmosféricas haciéndolas de aspecto polvoriento, deslustradas, resquebrajadas y más pálidas. Sobre tejidos, el brillo es a menudo menos visible.¹⁹

El color varía con la edad y el soporte sobre el que recaen. En los tejidos absorbentes y claros las manchas presentan un color rojo oscuro, que con el paso del tiempo tienden a ennegrecerse más.

Estudio del Soporte.

Soporte: Es toda superficie donde se encuentran las manchas de sangre (cuerpo, ropas, suelo, murallas, vidrios, etc.).

Las manchas de sangre por contacto tendrán particularidades especiales atendiendo a la permeabilidad e impermeabilidad del soporte.¹⁹

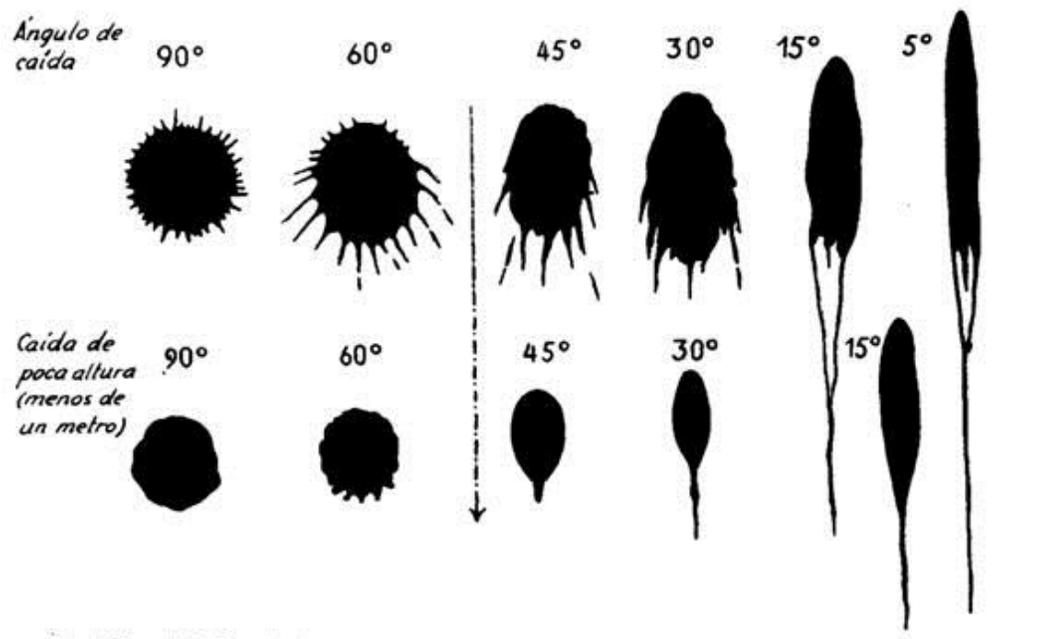


IMAGEN. 1. Las manchas de sangre por proyección dinámica varían en su forma tanto por su altura como por el ángulo de caída.⁵²

En general podemos decir que a poca altura las gotas son circulares mientras que a medida que va aumentando la altura se va volviendo elípticas así como van apareciendo la forma típica de raqueta.

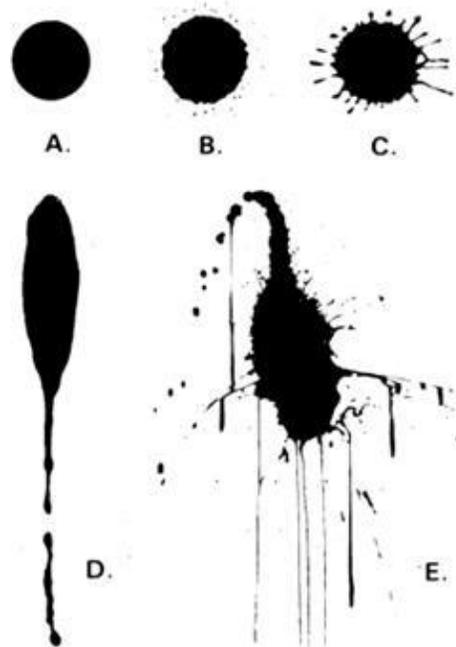


IMAGEN. 2.

- A). Mancha producida por una caída desde 20 cms. B). Mancha producida por una caída desde 1 mt.
C). Mancha producida por una caída desde 1.8 mts. D). Mancha producida por una caída desde 40 cms. con un ángulo de 25°
E). Mancha producida por 10 ml de sangre lanzados sobre una pared vertical lisa⁵²

En los tejidos oscuros las manchas se visualizan mal, por lo que se debe utilizar el reactivo de luminol para hacerlas aparentes.

Cuando la mancha asienta sobre un soporte no absorbente, forma costras con aspectos de escamas brillantes o agujas. Si la sangre es reciente, las escamas son rojas, aunque el color obedece, con independencia de la edad, del espesor de la costra; a menor dimensión, el rojo es más acusado. Con el tiempo las costras se van tornando más oscuras.¹⁹

2) Hematología Identificadora.

Es la rama de la hematología forense que se ocupa de identificar sangre.

Los procedimientos empleados están destinados a investigar si es sangre, a qué especie pertenece y en lo posible su individualidad.⁸

1.2.4. COMPOSICION DE LA SANGRE

La sangre es un tejido líquido que circula a través del cuerpo. Es la encargada de transportar el oxígeno a todo el organismo y de recoger el bióxido de carbono producido por los tejidos, para transportarlo al pulmón y ahí cambiarlo nuevamente por oxígeno. Constituye aproximadamente el 8% del peso corporal.¹⁹

Está formada por:

1. Partículas sólidas aproximadamente en un 50%, estas son:
 - Eritrocitos, células sin núcleo que se presentan de 4.5 a 5 millones por milímetro cúbico. En su membrana o estroma, se encuentran los antígenos de los grupos sanguíneos, fosfolípidos, enzimas, etc., en su interior contienen a la hemoglobina, sodio y potasio entre otras sustancias.
 - En la membrana del eritrocito encontramos los antígenos de los grupos sanguíneos también llamados aglutinógenos. En los eritrocitos, el grupo antigénico más inmunogénico es el sistema ABO y le sigue el sistema Rh o D.
 - Leucocitos o glóbulos blancos, en proporción de 5 a 10 mil por milímetro cúbico, están considerados como medio de defensa del organismo. Producen anticuerpos de varios tipos incluyendo anticuerpos de tipo sanguíneo o isohemaglutininas.
 - Plaquetas o trombocitos, en cantidad de 200 a 400 mil por milímetro cúbico, estos participa en la coagulación de la sangre.¹⁹
2. Plasma, una fracción líquida que ocupa el 55% aproximadamente de su volumen. Esta fracción contiene numerosas proteínas y sales orgánicas, es importante, ya que contiene, entre otras proteínas: anticuerpos o inmunoglobulinas, fibrinógeno, albúminas y globulinas, dentro de las cuales están la IgG, IgM, IgE y la IgA.

El suero es la fracción líquida que se obtiene después de la coagulación de la sangre extravasada y se encuentra por tanto desprovista de fibrinógeno.

Los elementos descritos en la sangre, nos permiten identificarla y efectuar la determinación del grupo sanguíneo eritrocitario.

3. Enzimas como fosfoglucomatasa, fosfatasa ácida eritrocitaria, adenyl kinasa y 6-fosfogluconato dehidrogenasa.
4. Proteínas como es la hemoglobina y haptoglobinas, se utilizan con fines forenses para tratar de individualizar una muestra de sangre por su frecuencia en la población.²⁰

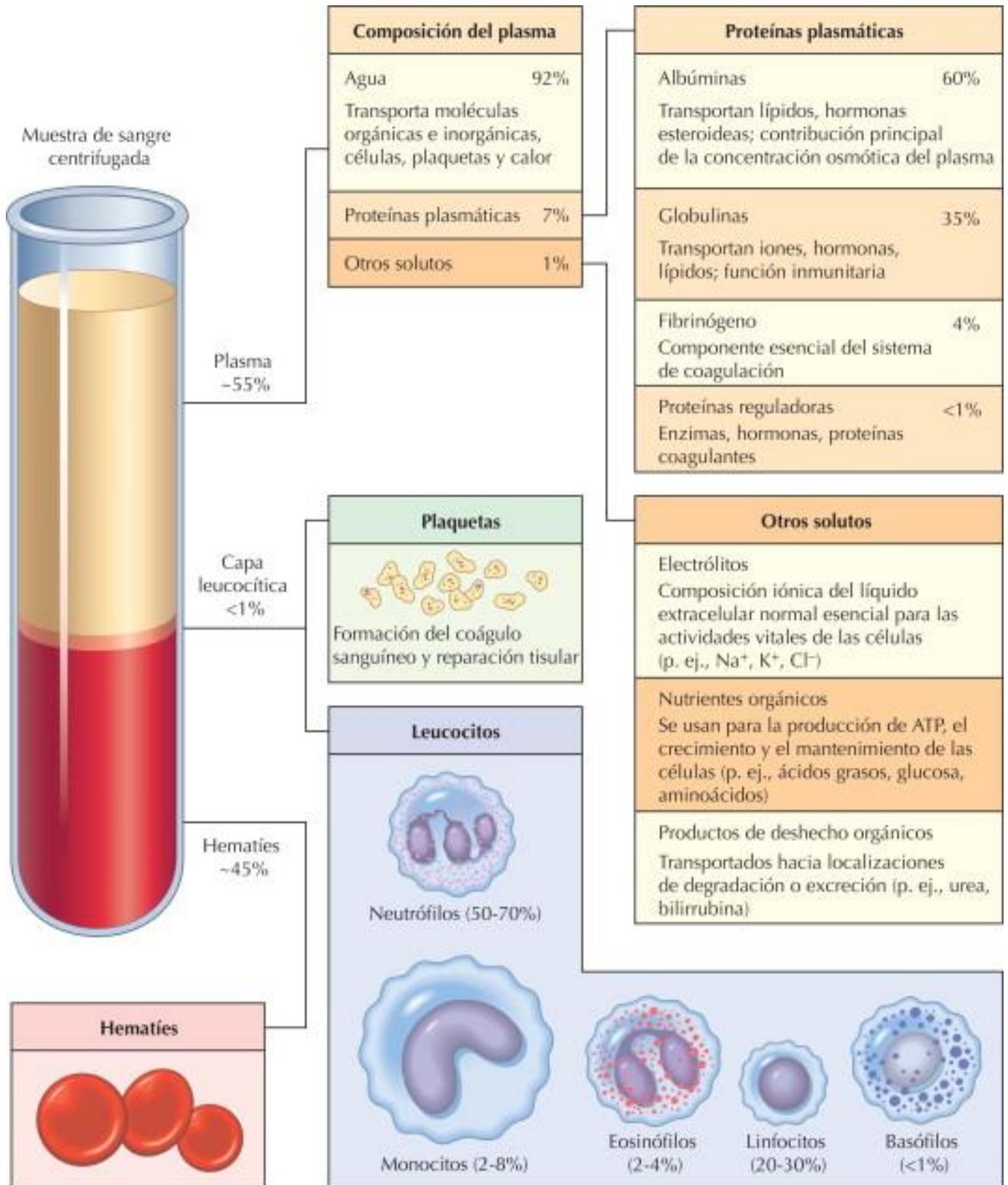


IMAGEN. 3. Componentes de la sangre⁵³

1.2.5. ESTUDIO FORENSE DE LA SANGRE

La investigación de manchas de sangre sigue ocupando un lugar preferente en la criminalística. Tradicionalmente, se ha venido realizando un sistema de investigación que incluye la realización de los siguientes diagnósticos:

- Orientación.
- Certeza.
- Especie.
- Individualidad (grupos, ADN, sexo, etc)
- Otros. (antigüedad, lugar de procedencia, etc.)

La tecnología de investigación de ADN ha hecho que, en el momento actual, el caudal investigador se haya centrado precisamente en este campo. Sin embargo, es la propia progresión técnica en este campo, la que debe devolver un papel fundamental a los estudios que traten de perfeccionar las técnicas de orientación en el estudio de manchas de sangre.⁴²

La sangre es el fluido biológico más importante para la química forense, algunas pruebas que se pueden realizar en ella, ya sea en personas vivas o cadáveres para la ampliación del peritaje son:

- Dopaje Etílico.
- Exámenes Toxicológicos Orgánicos fijos.
- Exámenes de Solventes Orgánicos volátiles.
- Exámenes de Tóxicos Metálicos.
- Exámenes de gases tóxicos y cáusticos.
- Determinación de sustancias químicas.
- Identificación de víctimas y/o victimarios.¹¹

CAPÍTULO II

TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN Y EMBALAJE DE MUESTRAS SANGUÍNEAS.

Una vez que se realiza la observación preliminar se procede a la búsqueda de indicios en la escena del crimen, para lo cual se utilizan métodos como el denominado por zonas, en espiral, criba, etc.; al ser localizados los objetos que se consideren de importancia para descubrir la verdad histórica de los hechos, debe fotografiarse antes de su recolección y marcar en los croquis los lugares donde se encontraron.

Posteriormente se llevará a cabo el levantamiento de los indicios de manera ordenada para que no exista la posibilidad de alterar la escena; utilizando las diferentes técnicas de levantamiento y embalaje, según los tipos de evidencias, evitando manipularlas demasiado con el fin de no dañarlas, destruirlas o modificarlas, para lo cual se recolectan y se empaquetan cada una con su respectiva etiqueta que las identifique, además de un registro de recuperación de evidencias.¹⁰

Como se mencionó anteriormente, para el levantamiento y embalaje se requiere del empleo de técnicas bien establecidas, según sea el tipo de indicios que se encuentre en el lugar, mismas que se describirán más adelante en este capítulo. En cuanto al levantamiento, se recomienda:

- Observar detenidamente las evidencias en el lugar donde se encuentren antes de levantarlas.
- Fijarlas fotográficamente antes de recolectarlas.
- Marcar en los croquis los lugares donde se encontraron.
- Utilizar equipo limpio y adecuado.
- Planear la técnica que va a utilizarse.
- Llevar un registro de la recolección.
- Utilizar guantes quirúrgicos o de plástico.
- No manipular en exceso las evidencias.

Con respecto al embalaje, cabe recomendar lo siguiente:

- Utilizar recipientes adecuados.
- Guardar las evidencias de manera individual.
- Rotularlas claramente, anotando fecha, hora, número de averiguación, tipo de evidencia, localización, nombre de quien la recolectó, y número del artículo.

Hay muchas posibilidades de recolección de objetos que pueden relacionarse con los hechos, en este trabajo se describirán sólo aquellas que se utilizan para recolectar sangre como elemento de prueba en la investigación criminal.¹⁰



IMAGEN. 4. Bolsas y sobre para transportar objetos o prendas con sangre.⁵⁵

Valor investigativo.

Comprende los aspectos siguientes:

- ¿Se trata de una mancha de sangre?
- ¿Es sangre humana o de animal?
- Si se trata de sangre humana, ¿a qué tipo y grupo pertenece?
- ¿De cuál región orgánica procede?
- ¿Cuál es la edad de la mancha?
- ¿A quién pertenece?

2.1. RECOLECCIÓN EN DERRAME DE SANGRE.

1. Utilice una jeringa estéril o gotero estéril y pase la muestra a un tubo estéril para almacenar sangre, sin anticoagulante (tubo de ensayo con tapón color rojo).
2. Si no tiene una jeringa nueva, también puede absorber parte de la muestra mediante el uso de un trozo de tela estéril o bien puede usar aplicadores estériles secos (unos 4), los cuales se deben posteriormente ser colocados en un tubo estéril de acuerdo a lo estipulado en el punto anterior.¹⁶
3. Levante una muestra control, repitiendo el procedimiento anterior, pero esta vez sobre un área de la misma superficie que no presente manchas de sangre.
4. Seque el material (torundas o trozos de tela) a temperatura ambiente y evitando el contacto con otras superficies. Para ello colóquelo en una caja de Petri o cajas pequeñas de cartón estériles.
5. Coloque el material en tubos estériles sin anticoagulante ni aditivos (tapón rojo).
6. Rotule cada tubo con la fecha y hora, sitio de la recolección, nombre de las partes y el nombre de la persona que recolectó.
7. Embale, rotule y lacre cada tubo en un sobre de papel manila de tamaño apropiado, indicando claramente que el sobre contiene un tubo de ensayo con sangre.
8. Transporte al laboratorio.¹⁶



IMAGEN. 5. Recolección de derrame de sangre.⁵⁵

2.2. RECOLECCIÓN DE MANCHAS HÚMEDAS.

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

1. Si el material de soporte lo permite corte con hojas de bisturí nuevas y estériles.
2. Por el contrario, el levantamiento se puede realizar utilizando:
 - Aplicadores estériles secos o
 - Trozo de tela absorbente estéril (Use pinzas descontaminadas) ó
 - Hebras de hilo absorbente estériles (Use pinzas descontaminadas).¹⁸
3. La hoja de bisturí debe descartarse una vez recortada la muestra.
4. Frote el material de recolección sobre la mancha de sangre. Utilice 3 a 4 aplicadores por mancha si esta es abundante; sino utilice solamente uno sin rotarlo.
5. Levante la muestra control, repitiendo el procedimiento anterior, pero esta vez sobre un área que no presente manchas de sangre y utilizando una hoja de bisturí nueva y limpia o un aplicador estéril.
6. Seque el material (torundas, hebras, trozo de tela o de soporte) en cajas de Petri estériles antes de embalarlo.
7. Coloque las muestras en tubos de ensayo sin anticoagulante (tubos de ensayo con tapón rojo).
8. Rotule cada tubo con la fecha y hora, sitio de la recolección, nombre de las partes y el nombre de la persona que lo recolectó.
9. Embale, rotule y lacre cada tubo en un sobre de papel manila de tamaño apropiado, indicando claramente que el sobre contiene un tubo de ensayo con sangre.
10. Transporte al laboratorio para su análisis.¹⁸

2.3. RECOLECCIÓN DE MUESTRAS DE SANGRE EN PERSONAS.

1. La toma de muestras para comparación o análisis a las personas involucradas en un proceso penal idealmente deben realizarse en las secciones de Bioquímica o toxicología del Laboratorio, según corresponda. En el caso de zonas rurales y horas no hábiles, se debe solicitar la colaboración de toma de muestra al Centro de Salud más cercano que se encuentre abierto. Las muestras quedarán bajo custodia de las autoridades judiciales hasta su envío al Laboratorio.¹⁸
2. Las muestras de sangre SOLAMENTE deben ser tomadas por personal calificado (profesional en medicina, microbiología, enfermería o flebotomista) para este tipo de procedimientos, a partir de la punción venosa, en la medida de lo posible y según se indica a continuación.
3. Solicite a la persona alguna identificación (pasaporte para extranjeros), y anote en la solicitud de Dictamen Criminalístico; nombre y apellidos de la persona, cédula de identidad o número de identificación, la fecha y la hora, así como el nombre de quien toma la muestra.
4. Si la persona no porta identificación, se consignará en la solicitud y se le tomará una huella digital de los dedos pulgares e índices. Dentro de lo posible tome una fotografía que se incluirá en la misma solicitud. Además se indicará el nombre completo que la persona dice tener.
5. Para el análisis de ADN se puede utilizar cualquiera de los siguientes tubos: con anticoagulante EDTA (tapón morado), o bien con ácido cítrico y dextrosa (tapón amarillo). Envíe un tubo con 5-8 ml de sangre como mínimo.¹⁶
6. Si la persona se niega a la extracción de la muestra, se anota en la misma "Solicitud de Dictamen Criminalístico" una observación que así lo indique. Se le pide al paciente que firma la nota de su negativa. Si se niega también a firmar se anota además que la persona no quiso firmar. Se anotarán además la fecha que la persona no quiso firmar. Se anotarán además la fecha y la hora, así como el nombre, apellidos y número de cédula de otra persona, quien firmará como testigo de la negativa.
7. En las situaciones en que el paciente se niegue a la toma de la muestra o suministrarla **NO SE DEBE EJERCER NINGUN TIPO DE PRESION O PERSUASIÓN**. Es recomendable en la medida de lo posible comunicarse con el Juez para informarle del caso
8. Si no se presentan inconvenientes se procede a la toma de la muestra de sangre. Con la persona preferiblemente sentada, limpie la piel con un algodón impregnado con alcohol al 70%. Se procede a la extracción de la sangre por punción venosa en la vena cefálica, basilica o cubital media.¹⁸

9. Rotule cada tubo con los siguientes datos; fecha, hora, número de caso, nombre de la persona a la que se tomó la muestra, análisis solicitado y en el caso que se desee determinar la hormona gonadotropina coriónica (prueba de embarazo) se debe anotar la fecha de la última menstruación.

10. Cualquier incidente durante la toma de muestras deberá ser anotado en el apartado de Resumen del caso o de los hechos acontecidos en la solicitud de dictamen criminalístico.

11. Luego de la venipunción, pida la persona doblar el brazo con el algodón prensado en el punto de punción y mantenerlo así por unos diez minutos. Devuelva la identificación si la aportó. Embale los tubos y adjunte la solicitud de Dictamen Criminalístico debidamente llena, al embalaje externo. Transporte en cadena de frío lo antes posible. **NUNCA CONGELE** estas muestras.

12. Si la persona está internada en un hospital o clínica consciente o inconsciente, pida una autorización firmada en la misma solicitud al médico encargado del paciente para la toma de la muestra o muestras.

13. Envíe cuanto antes al Laboratorio en cadena en frío.¹⁸



IMAGEN. 6. Recolección de muestra de sangre en personas.⁶¹

2.4. RECOLECCIÓN DE MANCHAS SECAS.

2.4.1. LEVANTAMIENTO POR RASPADO.

Esta técnica es aplicable solo a manchas secas de sangre sobre objetos voluminosos o inamovibles.³⁵

1. Raspe la mancha con una hoja de bisturí nueva y limpia sobre una caja Petri estéril. Cambiar la hoja del bisturí en cada muestra.
2. Coloque el polvo en un tubo estéril sin anticoagulante.
3. Rotule adecuadamente con fecha y hora, sitio de recolección, nombre de las partes y nombre de la persona que recolectó.
4. Levante una muestra control, repitiendo el procedimiento anterior, pero esta vez sobre un área que no presente mancha.
5. Embale, rotule, y lacre en un sobre papel manila de tamaño apropiado, indicando claramente que el sobre contiene un tubo con sangre.³⁵



IMAGEN. 7. Recolección de sangre por raspado.³³

2.4.2. LEVANTAMIENTO POR CORTADO.

1. Si el objeto manchado es muy voluminoso, y el material permite el uso de la tijera, proceda a cortar parte del material de soporte conteniendo la mancha y séquelo al aire. Si el tamaño de la muestra lo permite, utilice una placa de Petri estéril. Use pinzas descontaminadas.
2. Coloque el material en un recipiente (bolsa o sobre de papel) limpio y seco.
3. Rotule adecuadamente con la fecha y hora, sitio de recolección, nombre de las partes y nombre de la persona que recolecto.
4. Levante una muestra control en un área que no presente manchas.
5. Objetos de gran tamaño manchados con sangre, deberán ser embalados con papel. Muestras más pequeñas que se han secado, deben ser colocadas en caja de Petri, plásticas, o bien utilice tubos de ensayo estériles sin anticoagulante.
6. Embale, rotule y lacre cada muestra en un sobre manila de tamaño apropiado, indicando claramente el sobre contiene un tubo de sangre. En caso de que utilice cajas de Petri, asegure la cubierta superior con cinta adhesiva con el fin de que la muestra no se salga.
7. Transporte al laboratorio.³⁵

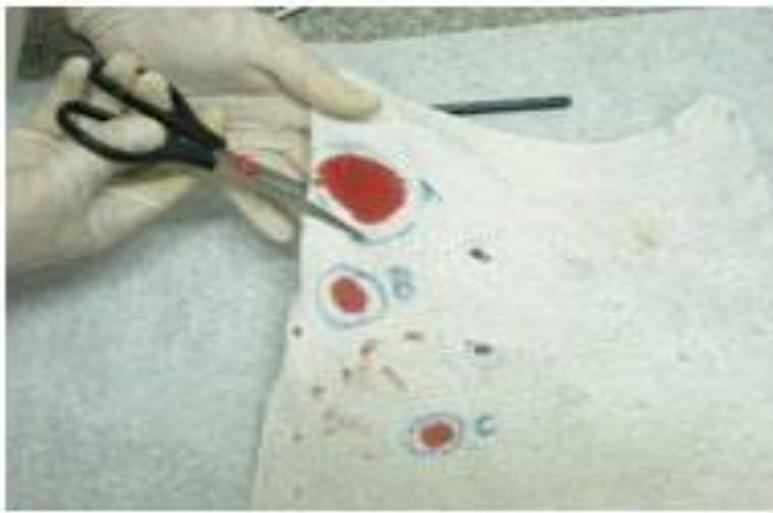


IMAGEN.8. Levantamiento de sangre por cortado.³⁷

2.4.3. LEVANTAMIENTO POR DILUCIÓN.

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

Para efectuarlo se podrán utilizar:

Aplicadores húmedos con agua destilada o solución salina estéril o un trozo de tela estéril humedecido en agua destilada o solución salina estéril, use pinzas descontaminadas.⁵⁰

1. Frote el material de recolección humedecido sobre la mancha de sangre.
2. Seque el material antes de embalarlo en una caja de Petrí estéril o bolsa estéril.
3. Coloque el material en tubos de ensayo sin anticoagulante.
4. Rotule adecuadamente con fecha y hora, sitio de la recolección, nombre de las partes y nombre de la persona que recolectó.
5. Levante una muestra control en un área que no presente manchas.
6. Embale, rotule y lacre cada muestra en un sobre manila de tamaño apropiado, indicando claramente el sobre contiene un tubo de sangre.
7. Transporte al laboratorio.⁵⁰

2.5. REMISIÓN DE INDICIOS AL LABORATORIO.

Todos los elementos deberán estar embalados de acuerdo con su naturaleza, debidamente etiquetados (con indicación de la causa, indicando si es de la posible víctima y del imputado, la fecha de recolección y serán firmados por la institución correspondiente) y se entregarán a la autoridad competente; asimismo se harán sugerencias respecto al tipo de estudio requerido para cada uno de ellos en el laboratorio.

El objetivo perseguido con la entrega del indicio al laboratorio de criminalística es procesarlo técnica y científicamente, para fines identificativos y reconstructivos, así como para determinar su asociación o participación en el hecho.³⁰

El suministro de los indicios al laboratorio deberá acompañarse del oficio de petición que describa los aspectos que se necesita sean tratados y estudiados; se recabará el acuse de recibido correspondiente.

Es importante que los documentos sean debidamente verificados y los indicios y evidencias deben ser estudiados con minuciosidad, con la finalidad de descubrir el móvil del acto criminal.⁵⁰

En la acción de un delito, suele haber siempre una acción de intercambio, esto quiere decir que el agresor y la víctima interactúan de tal forma que uno deja algún rastro sobre el otro, de esta forma se tiene que para los diferentes delitos se busca un indicio en especial de acuerdo a su naturaleza:

Homicidio: los indicios más encontrados son las armas de fuego, objetos contundentes o punzo-cortantes.

Suicidios: los indicios más encontrados son las drogas de abuso.

Violaciones: los indicios más buscados son manchas de semen, pueden ser secas o frescas, fibras capilares, piel en las uñas de la víctima, saliva, etc.

Entre los indicios que más suelen hallarse en el lugar de los hechos están:

- Los presuntos instrumentos materiales del ilícito (armas de fuego, proyectiles, instrumentos cortantes, veneno, etc.).
- Las huellas del autor o relacionadas con él (impresiones dactilares, pisadas, escrituras y marcas de estas, cabellos y restos de tela, de sangre, etc.).
- Las huellas de la víctima y también en ella (cadáver, rigidez cadavérica, estado de lividez cadavérica, proceso de putrefacción, momificación, espasmo cadavérico, notas póstumas, huellas en sus ropas, restos de sangre, etc.).
- Las huellas del lugar y de la dinámica del delito (huellas y dirección de pisadas, posición y estado de los objetos, huellas de neumáticos, aceleración, freno, dirección etc., herramientas dirección de huellas dactilares, roturas, forzamientos, etc.).³⁴

Precauciones generales

- La recolección, manipuleo y acondicionamiento de la muestra debe cumplir con las Normas de Bioseguridad, para preservar su integridad
- Recolectar la muestra con guantes y pinzas u otro objeto para su manipulación
- Embalar por separado cada muestra
- En muestras biológicas NO empaquetar en bolsas plásticas porque aceleran la putrefacción

- Para asegurar la inviolabilidad o no adulteración precintarse la tapa al cuerpo del recipiente que contenga la muestra firmemente con cinta o faja de papel.
- El precinto de recipientes o bolsas debe ser firmado por la persona que realiza la toma de muestra
- Cada muestra debe ir acompañada por el documento oficial correspondiente.³⁵

Acondicionamiento

Para muestras en sobres de papel o biológicas sin cadena de frío

- Colocar todos los sobres o recipientes precintados y rotulados de muestras de un mismo caso en un sobre grande o caja. Precintarse y rotular con los datos del Destinatario y Remitente.²²

Para muestras biológicas líquidas que requieren cadena de frío

- Introducir los recipientes en una caja de cartón o similar
- Colocar material absorbente entre los recipientes y la caja
- Colocar la caja en una conservadora y rellenar todo el espacio entre ambos con material refrigerante (bolsitas con geles criogénicos o hielo seco) en cantidad suficiente según la cantidad de muestra remitida y el tiempo de transporte estimado para mantener la cadena de frío en óptimas condiciones
- Embalar, precintarse y rotular con los datos del Destinatario y Remitente. Agregar la leyenda

Contiene Material Potencialmente Infeccioso

- Enviar al Laboratorio tan rápido como sea posible.²²



IMAGEN. 9. Rotulado de muestras²²

Identificación de Muestra:

Causa:

Derivado por:

Tipo de muestra:

Fecha/hora de extracción:

Lugar de extracción:

Extraído por:

Identificación de Envío:

Lab. Química Legal

Dirección

Remitente

Nombre de Institución o Persona

Dirección, Localidad,

Provincia, Tel/Fax:

CAPÍTULO III

TÉCNICAS DE ORIENTACIÓN PARA LA IDENTIFICACIÓN DE SANGRE EN MANCHAS.

Las técnicas de orientación son pruebas rápidas y basadas en la actividad de la peroxidasa que posee el grupo hemo de la hemoglobina de la sangre y que, en presencia de agua oxigenada y de ciertos reactivos orgánicos dan lugar a la aparición de coloraciones o luminiscencia que orientan sobre la posible existencia de sangre en las muestras analizadas.

Si el resultado de los ensayos preliminares es negativo, la mancha no contiene sangre en cantidades detectables como para permitir su posterior análisis. Si el resultado es positivo, se requiere continuar con los ensayos para confirmar su presencia.¹⁵

Se realizan solamente cuando hay suficiente cantidad de muestra, para no dificultar la realización de las pruebas de certeza, especificidad y tipificación de grupo.

Toda técnica de orientación emplea reacciones de confirmación ya que se pueden tener falsas reacciones positivas con otras sustancias que tengan actividad semejante a las de las peroxidases o bien con otros agentes oxidantes.

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

1. **Reacción de bencidina. (ADLER)**
2. **Reacción de la fenoltaleína reducida. (KASTLE-MEYER)**
3. **Reacción de leuco-malaquita verde. (HUNT)**
4. **Técnicas espectroscópicas.**
5. **Luminol.**
6. **Fluoresceína.¹⁵**

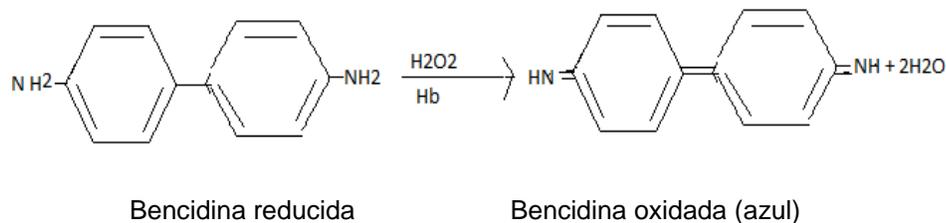
3.1. TÉCNICA DE LA BENCIDINA O DE ADLER

FUNDAMENTO QUIMICO:

Las peroxidasas sanguíneas son catalasas que, como su nombre lo indica, 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:¹⁹



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 azul.¹⁹



Bencidina reducida Bencidina oxidada (azul)

FIG. 1 Reacción de la bencidina o técnica de Adler ⁷

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

BENCIDINA (método 1)	
Reactivos	Método de preparación para 10 ml.
Bencidina Ácido acético glacial Peróxido de hidrogeno al 3%	Obtener una solución saturada de bencidina en 5ml de ácido acético glacial, Añadir 5 ml de peróxido de hidrógeno al 3% Guardar en un frasco gotero Usar inmediatamente

TABLA 1. Método 1 de la reacción de bencidina⁶

BENCIDINA (método 2)	
Reactivos	Método de preparación para 100 ml.
Bencidina	Disolver 0.14 g de bencidina en 100 ml de etanol absoluto
Ácido acético glacial	Añadir 2-3 gotas de ácido acético glacial.
Peróxido de hidrogeno al 3%	Guardar en un frasco y mantener refrigerado mientras no se use.
Etanol absoluto	Preparar en otro frasco peróxido de hidrógeno al 3%

TABLA 2. Método 2 de la reacción de bencidina⁶

PROCEDIMIENTO:

Humedecer un hisopo con H₂O destilada y frotarlo sobre la mancha problema.

Añadir al hisopo 1 o 2 gotas de solución de bencidina, después de unos momentos de observar que no dé coloración con ésta, poner la misma cantidad de H₂O₂ sobre el hisopo.

En caso positivo aparecerá rápidamente una coloración azul.

3.2. TÉCNICA DE LA FENOFTALEINA REDUCIDA O KASTLE-MEYER

FUNDAMENTO QUIMICO:

Se fundamenta en la actividad, similar a una peroxidasa, de la hemoglobina en la sangre, mismo principio utilizado en la técnica de Adler:

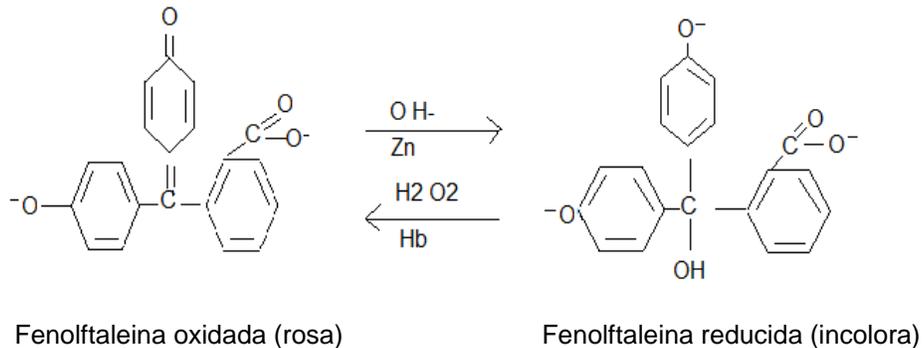


FIG. 2. Reacción de fenolftaleína reducida o Kastle-Meyer.¹⁵

La diferencia está en que la fenolftaleína debe ser reducida previamente a fenolftaleína incolora (de incolora a amarillo tenue), reactivo que por su labilidad, debe ser refrigerado en frasco ámbar, se trabaja en medio alcalino y se debe efectuar un calentamiento previo a 100°C durante un minuto.¹⁵

Lo antes mencionado explica el porqué de las modificaciones:

Termolabilidad.

Se sabe que todas las peroxididas vegetales se inactivan por calentamiento a 100°C, temperatura en que las peroxididas de origen animal son estables. Un periodo corto de calentamiento (un minuto a 100°C) servirá para diferenciar una de otra.³³

Tiempo.

Las peroxididas de origen animal son muy estables; las manchas de sangre humana dan resultados positivos aún después de varios meses de haberse producido. Las manchas de origen vegetal, dan resultados negativos.

pH.

Las peroxididas de origen vegetal reaccionan en medio ácido, no así en medio alcalino, es por esto que, la técnica de Kastle- Mayer es más confiable.

Esta técnica es más sensible que la de bencidina, siendo esto de 1:1 000 000 a 10 000 000.³³

REACTIVO KASTLE-MEYER	
Reactivos	Método de preparación para 50 ml de sol de trabajo
Fenofaleína	Mezclar 1g de fenofaleína con 10g de hidróxido de potasio y disolver en 50ml de agua.
Hidróxido de potasio	Añadir 10g de polvo de zinc.
Polvo de zinc	Mantener la solución calentando a reflujo hasta que se vuelva incolora. (Sol 1).
Etanol absoluto	Solución de trabajo: añadir a 10 ml de la solución 1.40 ml de etanol absoluto. La solución de trabajo debe mantenerse en refrigeración.
Agua destilada	En otro frasco, preparar peróxido de hidrógeno al 3%.

TABLA 3. Método de la reacción de KASTLE-MEYER²⁶

PROCEDIMIENTO:

Humedecer un hisopo con solución salina, frotar la muestra problema y pasarla a un tubo de ensayo con 2 ml de la misma solución, calentar un minuto a 100°C, añadir unas gotas del reactivo, esperar unos segundos y agregar peróxido de hidrógeno.

En caso positivo se obtendrá una coloración rosa brillante.

En la reacción relevante, el peróxido de hidrógeno reacciona con la hemoglobina en la sangre. La fenolftaleína no participa en este primer proceso. En su reacción con el peróxido de hidrógeno, el centro hemo de la hemoglobina sufre la reacción de hemólisis del enlace O-O:



IMAGEN. 10. Coloración rosa brillante de la prueba de fenofaleína reducida o kastle-meyer positiva.⁴²
La sensibilidad reportada es de 1:10 000.

3.3. TÉCNICA DE LA LEUCOMALAQUITA VERDE DE HUNT.

FUNDAMENTO

Se basa en la reacción de oxidación y reducción, en donde la estructura de esta sustancia recuerda a la de la fenolftaleína; el prefijo “leuco”- refiere a la forma reducida incolora, preparada de la malaquita verde.¹⁶

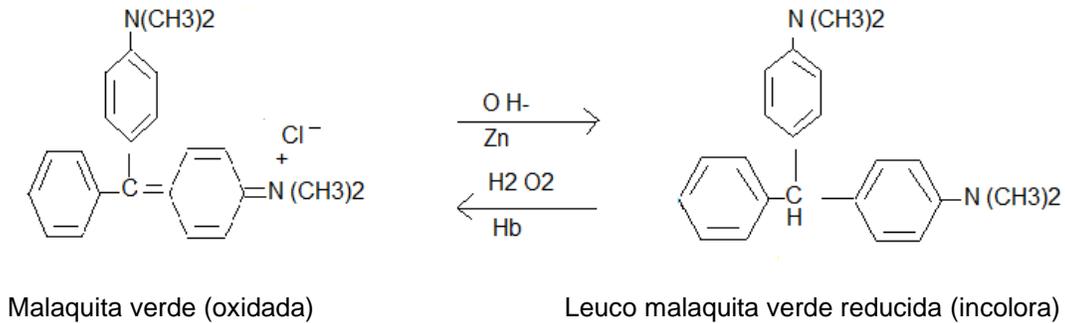


FIG.3. Reacción de leucomalaquita verde de Hunt.¹⁵

La leuco- puede ser oxidada por las peroxidasa para dar la forma oxidada verde; es más confiable para la sangre, pero menos sensible que la de la bencidina.

La forma leuco puede ser oxidada por la acción de las peroxidasa para dar la forma oxidada verde.

Leuco Verde Malaquita (método 1)	
Reactivos	Método de preparación para 4 ml de sol de trabajo
Leuco verde malaquita	Mezclar 0.32g de perborato de sodio con 0.1g de leuco verde malaquita.
Perborato de sodio	Guardar a temperatura ambiente.
Ácido acético glacial	Preparar una solución a partir de 8 ml de ácido acético glacial y 4 ml de agua destilada.
Agua destilada	Añadir a 4ml de la solución anterior, 0.14g de la mezcla leuco verde malaquita/perborato.
Peróxido de hidrógeno	Preparar en otro frasco peróxido de hidrógeno al 3%

TABLA 4. Método 1 de la reacción de leucomalaquita verde de Hunt.¹⁶

Leuco Verde Malaquita (método 2)	
Reactivos	Método de preparación para 10 ml de sol de trabajo
Leuco verde malaquita	Preparar una solución a partir de 8ml de ácido acético glacial y 4ml de agua destilada.
Ácido acético glacial	Añadir a 10ml de la solución anterior, 10mg de leuco verde malaquita.
Agua destilada	Usar inmediatamente.
Peróxido de hidrógeno	Preparar en otro frasco peróxido de hidrógeno al 3%

TABLA 5. Método 2 de la reacción de leucomalaquita verde de Hunt.¹⁶

PROCEDIMIENTO

Se levanta la mancha mediante un hisopo humedecido en agua destilada al cual se le agrega una gota del reactivo recién preparado; la prueba es positiva si hay viraje a color verde.

La bencidina, la fenolftaleína reducida y la leuco verde malaquita se utilizan principalmente para la búsqueda sobre superficies pequeñas o con muy poca muestra.⁶

La sensibilidad reportada es de 1 :32 000.

3.4. TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS

FUNDAMENTO

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

La hemoglobina diluida en agua (oxihemoglobina) tiene dos bandas de absorción en la zona del espectro visible entre 575 y 540 nm y una banda en los 412 nm más ancha de los derivados porfirínicos, conocida como Banda de Soret.¹⁵

PREPARACIÓN

Se extrae la mancha de sangre con agua destilada y se filtra para llevarse a espectrofotometría ultravioleta visible de doble haz y realizar un barrido espectral con registro gráfico, registrándose la hemoglobina en bandas de absorción a 575, 540 y 412nm

La muestra se alcaliniza con hidróxido de potasio y piridina, tornando la muestra a color verde y que corresponde a la hematina alcalina; en el espectro se observa la Desaparición de las otras bandas y presentándose una banda a 600 nm. Se agregan unas gotas de sulfato de amonio como reductor para que se forme el hemocromógeno que se registra en bandas de absorción en 559 y 530nm.⁶

PROCEDIMIENTO

Se impregna un cuadro de tela blanca y limpia de apresto de 5 X 5 mm con la muestra problema.

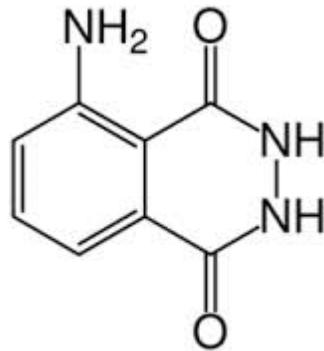
Se añaden 5 ml de agua destilada y se deja reposar durante 10 minutos para extraer y filtrar.

Se efectúa el barrido espectral y se obtienen tres bandas de absorción; dos finas de 575 y 540 nm. y una más ancha de 412 nm. Este espectro corresponde a la oxihemoglobina

Se efectúa nuevamente una extracción de la muestra problema, pero se le agrega una solución de ferrocianuro de potasio al 5%; se realiza el barrido y se obtiene una banda de 630 nm. que corresponde a la metahemoglobina

Este procedimiento, se realiza con un Espectrofotómetro ultra violeta-visible como el DK-2^a de doble haz y provisto de monocromador.⁶

3.5. LUMINOL.



(5-amino-2,3-dihidro-ptalazina-1,4-diona): es una sustancia química que se oxida en una solución alcalina en presencia de perborato de sodio (NaBO_3) y un sistema peroxidasa (como la sangre).⁴¹

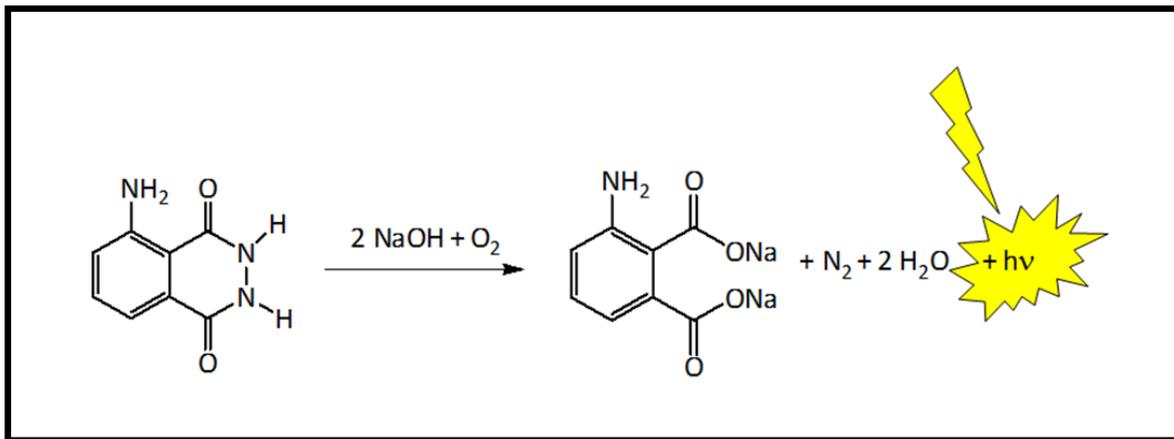


FIG.4. Reacción de luminol.⁴⁸

Esta prueba es muy sensible y puede revelar sangre que esté presente en pequeñas cantidades, o que por algún motivo al querer ocultar el delito han sido lavadas, limpiadas con cloro, incluso en paredes que han sido pintadas para ocultar la sangre. A pesar del hecho de que puede afectar negativamente algunos procesos de pruebas serológicas, el luminol no afecta el tipo de sangre o posterior análisis de ADN.³

El luminol ($\text{C}_8\text{H}_7\text{N}_3\text{O}_2$), P. F. 317°C es derivado del ácido ftálico. Se trata de un sólido verdoso poco soluble, su importancia reside en la reacción de quimioluminiscencia que da con peróxidos en presencia de complejos de hierro como catalizadores.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Se utiliza en química forense para detectar trazas de sangre ya que está catalizada la oxidación con peróxido de hidrógeno bajo emisión de luz.

Las disoluciones de luminol son sensibles a la luz y a los cationes metálicos, son estables en periodos de 8 a 12 horas y, térmicamente inestables.

Es capaz de detectar cerca de 1 micro litro de sangre en 1 litro de disolución.³

LUMINOL 1 (formula de Grodsky, Wright y Kirk 1951)	
Reactivos	Método de preparación para 500ml de sol de trabajo
3-Aminophtalhidracina (luminol)	Disolver 3.5g de perborato de sodio en 500ml de agua destilada.
Perborato de sodio.	Añadir 0.5g de luminol y 25 g de carbonato de sodio.
Carbonato de sodio.	Agitar y disolver.
Agua destilada.	Dejar reposar durante 5 minutos. Filtrar la solución y pasarla a una botella con nebulizador. Utilizarla inmediatamente.

TABLA 6. Método 1 de la reacción de Luminol.⁴¹

LUMINOL 2 (fórmula de Weber 1966)	
Reactivos	Método de preparación para 100ml de solución test
3-Aminophtalhidracina (luminol)	Solución de trabajo A:
Hidróxido de sodio.	Disolver 8g de hidróxido de sodio en 500ml de agua destilada (0.4N).
Peróxido de hidrógeno.	Solución de trabajo B:
Agua destilada	Mezclar 10ml de peróxido de hidrógeno al 30% en 490ml de agua destilada (0.176M). Solución de trabajo C: Disolver 0.354 g de luminol en 62.5ml de hidróxido de sodio 0.4N y aforar hasta 500ml con agua destilada 80.00 4M). Mantener en refrigeración las soluciones de trabajo. Solución test (100ml): Mezclar 10 ml de la solución A con 10 ml de solución B, 10 ml de sol. C y 70 ml de agua destilada.

TABLA 7. Método 2 de la reacción de Luminol.⁴¹

PROCEDIMIENTO:

Con ayuda de un aspersor, la mezcla se esparce sobre la zona sospechosa. En caso positivo, las manchas de sangre producen luminiscencia.³⁶

Para la determinación de presencia presuntiva de sangre en un área específica y/o escena de crimen, se rocía el reactivo de luminol directamente sobre el lugar donde se sospecha la existencia de sangre no visible macroscópicamente.

La prueba se basa en la propiedad peroxidasa de la sangre en la que ésta sirve de catalítico para que el luminol sea oxidado por el perborato de sodio en un medio alcalino, y como consecuencia genera quimioluminiscencia en la oscuridad, siendo la reacción:

Luminol + NaBO_3 sangre Luciferasa = Luminiscencia



IMAGEN.11. Foto de observación de luminiscencia en escena.⁴⁷

La sensibilidad de la prueba de Luminol es de 1: 1 000 000.

Observaciones generales sobre aplicación del luminol:

1. En estudios realizados se demostró que la sangre seca, descompuesta y más vieja emite una luminiscencia más brillante.²
2. Una luminiscencia puede ser reactivada por la aplicación de luminol fresco en forma de spray después de una aplicación previa que se ha secado, ya que la sangre puede ser detectada en una dilución de 1:1, 000,000.
3. La aplicación del reactivo del luminol debe hacerse en forma de spray, utilizando un atomizador. La aplicación debe ser tenue y ligera sobre la superficie.²
4. El reactivo de luminol debe aplicarse en oscuridad.
5. Una reacción positiva se observa como una luminiscencia azul.
6. Es procedente aplicar luminol cuando:
 - Se supone lavados para manipular o hacer desaparecer restos de sangre.
 - No se observan manchas de sangre macroscópicamente.
 - Se desee rastrear un área donde se deseen reconstruir los hechos.
 - El área sea cerrada y haya sido preservada adecuadamente, y no haya sido expuesta a condiciones climáticas desfavorables como la lluvia.
 - En el área no exista contaminación por el paso continuo de personas o limpieza continua durante mucho tiempo.³
7. Cuando se solicite una prueba de Luminol se recomienda asegurarse que las condiciones para su realización sean adecuadas y que se informe el tamaño del área que se va a hacer un muestreo, con el objeto de calcular la cantidad de reactivos necesarios para su aplicación, además de tomar en cuenta las condiciones bajo las cuales se ha mantenido la escena.

Estudios han demostrado que la aplicación previa del reactivo de luminol sobre una superficie no tiene efecto adverso en el subsecuente análisis de ADN mediante el PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa).³

3.6. FLUORESCEÍNA

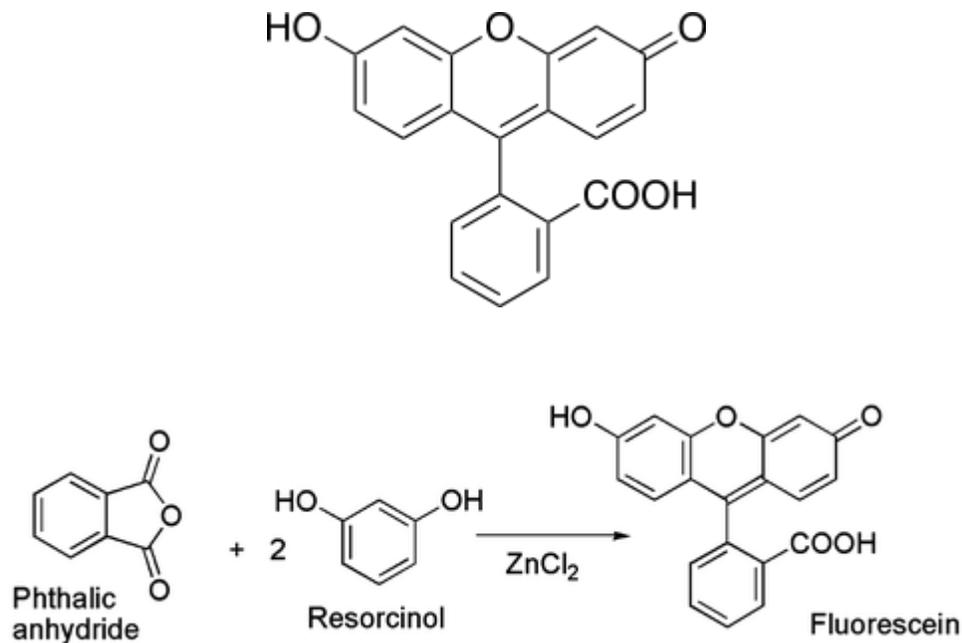


FIG.5. Reacción de la fluoresceína.¹⁸

Es un compuesto químico menos conocido pero igualmente capaz de descubrir restos de sangre empleado como estudio de orientación.

Es un reactivo fluorescente como el luminol que se aplica mediante un vaporizador.

Sin embargo el procedimiento a seguir es distinto porque como paso previo, la zona de trabajo se iluminará a 445nm, observando con gafas amarillas o naranjas (dependiendo del color del sustrato, se puede seleccionar otras diferentes). Es la forma de conocer y valorar cualquier interferencia del soporte.⁵

A continuación se rociará con la solución de fluoresceína y en seguida, con peróxido de hidrógeno.³⁶

Por último, para detectar la luminiscencia, que indica el positivo, es necesario de nuevo, el auxilio de la luz forense.

Se ha publicado que la sensibilidad de este test es similar a la del luminol, aunque se advierte que no es eficaz sobre manchas concentradas.²⁰

Por otra parte ha quedado demostrado que cumple la condición de no impedir el análisis genético.

Para su preparación se utiliza como solvente el agua o el etanol. El segundo es más eficaz en vertical, porque al evaporarse rápidamente, evita la formación de regueros con la consecuente pérdida de indicios. Por lo contrario, el agua será de elección para el tratamiento sobre planos horizontales y/o de naturaleza porosa.

PREPARACION DE FLUOROSCEINA CON ETANOL
Solución estándar 1: 0.1g de fluoresceína 20ml de etanol 2g de zinc 1ml de ácido acético glacial Adicionar unas virutas de zinc
Solución estándar 2: Se diluye 10ml de H ₂ O ₂ al 30% en 90ml de etanol
Solución de trabajo: Filtrar la solución estándar 1 Diluir 1ml de la disolución estándar 1 en 99ml de etanol

TABLA 8. Preparación de fluoresceína con etanol.³¹

PREPARACION DE FLUOROSCEINA CON AGUA DESTILADA
Solución estándar 1: 0.1g de fluoresceína 20ml de etanol 2g de zinc Añadir 1g de hidróxido de sodio y agitar. Adicionar unas virutas de zinc.
Solución estándar 2: Se diluye 10ml de H ₂ O ₂ al 30% en 90ml de agua destilada o etanol.
Solución de trabajo: Filtrar la solución estándar 1 Diluir 1ml de la disolución estándar 1 en 99 ml de agua destilada

TABLA 9. Preparación de fluoresceína con agua destilada.³¹

Queda por mencionar el reactivo más reciente dedicado a la búsqueda de rastros de sangre. Llamado Bluestar Forensic Kit, es un derivado del luminol, más eficaz. Las ventajas frente al luminol radican principalmente en que genera una luminiscencia más brillante y se ve menos afectado por las interferencias de los hipocloritos. Además para obtenerlo basta con disolver dos tabletas en agua destilada.⁴²

La extrema sensibilidad de BLUESTAR® FORENSIC permite ver a simple vista manchas de sangre diluidas a un grado de 1:10.000, como rastros diminutos o gotas que han sido lavadas con o sin detergente.

En artículos publicados por grupos independientes, se ha llegado a la conclusión que la reacción de este reactivo con las peroxidasas es muy intensa, pero da lugar a más falsos positivos que el luminol, por tanto, es menos específico.

BLUESTAR® FORENSIC no altera el ADN y permite análisis subsecuentes de ADN y de ABO, trabaja tan bien en sangre fresca como en manchas de sangre muy antiguas o alteradas, puras o diluidas, tiene una vida útil larga y no requiere de condiciones especiales de almacenamiento.

Una vez mezclado, BLUESTAR® FORENSIC es estable y funciona durante horas, o incluso varios días.⁴²

En cualquier caso, el experto será el encargado de valorar cuál es la mejor elección.



IMAGEN. 12. Bluestar Forensic Kit.⁴²

CAPÍTULO IV

TÉCNICAS DE CONFIRMACIÓN PARA IDENTIFICACIÓN DE SANGRE EN MANCHAS.

Estas técnicas son ensayos específicos que certifican la existencia de sangre en la mancha investigada. Las más utilizadas son:

- TECNICA DE CRISTALES DE HEMINA. (TEICHMANN)
- TECNICA DE CRISTALES DE HEMOCROMÓGENO. (TAKAYAMA)

4.1. TECNICA DE CRISTALES DE HEMINA (TEICHMANN)

FUNDAMENTO

Las proteínas (globulinas), se separan inmediatamente de la hemoglobina y del grupo prostético cuando se tratan con ácido acético, con el cual, se crea un medio ácido en donde el grupo hem se oxida más rápidamente que en un medio alcalino; si hay algún halógeno inorgánico como el cloro, se formarán cristales insolubles de cloruro de ferriprotoporfirina o hemina:¹⁶

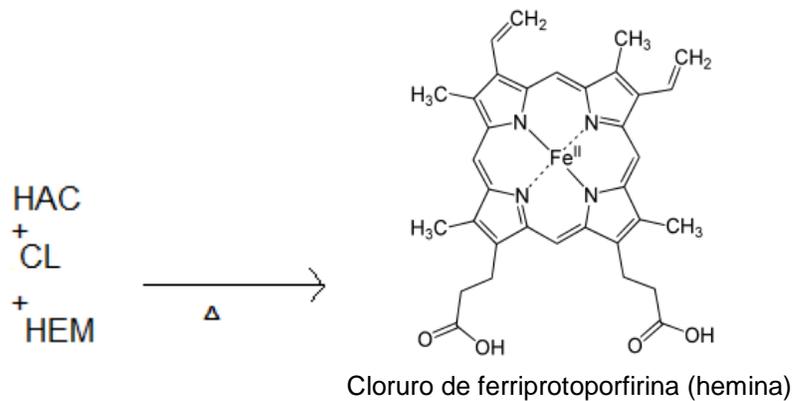


FIG.6. Reacción de Teichmann.¹⁶

PREPARACIÓN

- Cloruro de sodio 0.1 gr
- Bromuro de potasio 0.1 gr
- Ioduro de potasio 0.1 gr
- Ácido acético c.b.p. 100 ml

PROCEDIMIENTO

Se coloca en un portaobjetos de vidrio la muestra problema cubriéndola con un Cubreobjetos y se deslizan entre éstas unas gotas de reactivo de Teichmann.

Se calienta a temperatura baja lentamente hasta la evaporación, dejando enfriar para poder observar al microscopio.³⁰

En caso positivo se observarán unos cristales romboidales de color café oscuro.

Esta prueba da buenos resultados aún con manchas antiguas y con muy pequeña cantidad de sangre.



IMAGEN.13. Cristales de hemina de Teichmann.⁶²

4.2. TÉCNICA DE CRISTALES DE HEMOCROMÓGENO (TAKAYAMA).

FUNDAMENTO

La ferroprotoporfirina y la ferriprotoporfirina se combinan con compuestos nitrogenados que incluyen a otras proteínas, hidróxido de amonio, piridina y nicotina, los productos resultantes son llamados hemocromógenos mediante la hemoglobina creando cristales tanto en medio ácido como alcalino. El reactivo de Takayama es de naturaleza alcalina.³⁰

REACCIÓN

La hidrólisis alcalina con hidróxido de sodio libera el al grupo prostético de la hemoglobina, mientras que el hierro del hem se encuentra como ión férrico (+3) debido a la formación de metahemoglobina en el proceso de desecación de la sangre.³³

La carga del hierro se neutraliza por el ión OH. Calentando la glucosa se reduce el ión férrico a ferroso (+2) y la piridina se le combina para dar el hemocromógeno o piridinferroprotoporfirina en forma de cristal insoluble.

La prueba es más sensible y sencilla que la de los cristales de hemina y no se han reportado falsos positivos.

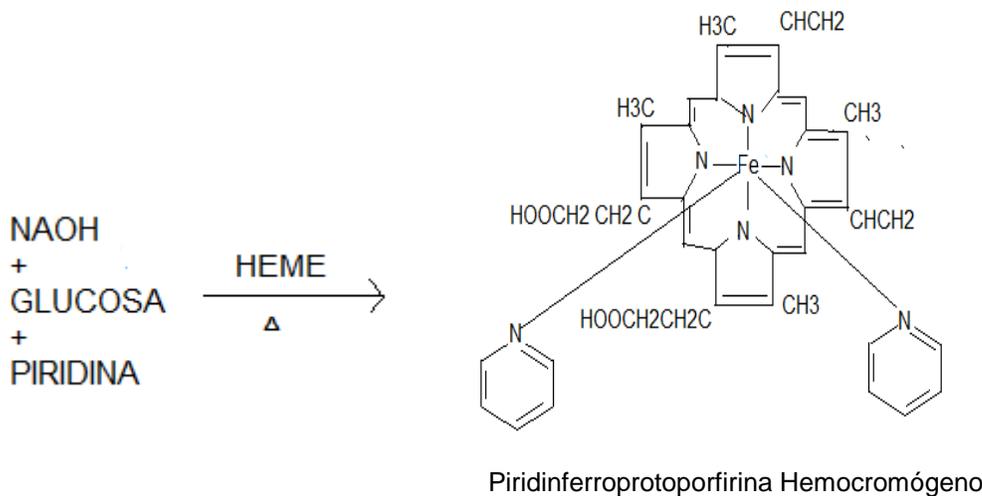


FIG. 7. Reacción de Takayama.¹⁵

PREPARACIÓN

Reactivo de Takayama es de naturaleza alcalina.

Se mezcla una parte de solución saturada de glucosa, una parte de solución de hidróxido de sodio al 10%, una parte de piridina (PM: 79.2 D = 048), y dos partes de agua destilada.¹⁶

Una vez preparada la mezcla se guarda en un frasco ámbar. La solución deberá ser preparada inmediatamente antes de utilizarse.

PROCEDIMIENTO

Una pequeña cantidad de la muestra problema se coloca entre el porta y cubre objetos. Por capilaridad se agrega un poco de reactivo y se calienta a temperatura baja durante 30 segundos.

Se observan cristales romboidales de color rosa al microscopio.¹⁶

CAPITULO V

**TÉCNICAS PARA LA DETERMINACIÓN DEL ORIGEN DE LA SANGRE.
(PRUEBAS DE ESPECIFICIDAD)**

Una vez realizadas las pruebas confirmatorias de sangre, debe efectuarse la investigación del origen humano o de otra especie al cual pertenece la muestra.¹

Existen dos formas de realizarlas:

1. Físicas o microscópicas.- La presencia de glóbulos rojos en una muestra ha sido de gran valor ya que el tamaño y la morfología de los mismos difieren entre las especies.

Los glóbulos rojos del hombre, como los de casi todos los mamíferos, son circulares y sin núcleo, a excepción de los del camello y otros relacionados, como los de la llama, que son ovales, pero también sin núcleo.

Las aves, reptiles y peces, poseen glóbulos rojos nucleados y de mayor tamaño que el de los humanos. Mediante estos datos es posible constatar que la sangre en cuestión no puede pertenecer a determinadas especies, quedando las mismas excluidas.¹

La sangre humana y la sangre animal, presentan diferencias de concentraciones en sus componentes, en el siguiente cuadro se resaltan algunas de ellas.

Elementos	Sangre Humana	Sangre Animal
Plasma	Líquido amarillento e incoloro	Es incoloro pero su tonalidad varía según la especie.
Glóbulos rojos	Diámetro de 7.2 micras, grosor 2.4 micras en la periferia y una micra en el centro. Periodo de vida 120 días en circulación	Diámetro de 7 a 8.4 micras, varia de forma y tamaño según su especie. Periodo de vida varía según la especie
Glóbulos blancos	Van de 4000 a 11000 leucocitos por mm cúbicos de sangre.	Varían su cantidad según la especie.
Plaquetas	Van de 150.000 a 500.000 mm cúbicos de sangre.	Varían según la especie

TABLA 10. Diferencias de concentraciones en los componentes de la sangre humana y animal.¹

2. Biológicas o Inmunológicas.- Consiste en una reacción antígeno-anticuerpo, y como la misma se visualiza con la obtención de un precipitado, se conoce con el nombre de ensayo de las precipitinas. Desde el principio de siglo, se sabe que es posible distinguir la sangre de diferentes animales por medio de sueros precipitantes.¹

La reacción de las precipitinas es la técnica inmunológica de elección para determinar si una mancha de sangre es de origen humano, la cual puede ser realizada de diversas maneras empleando el mismo fundamento.

Sin embargo, el químico debe reconocer el hecho de que el éxito de sus esfuerzos puede verse afectada por un número de factores relativos a los materiales a ser examinados.²⁴

Particularmente con respecto a la sangre, estos factores incluyen la edad de la mancha, la exposición al aire, la luz solar, la humedad, altas temperaturas, el grado en que la mancha se puede echar a perder, y la contaminación por productos químicos tales como detergentes. Además, las condiciones de la prueba en sí, tales como la temperatura, el pH, la solubilidad de la mancha y la dilución del extracto mancha juegan un papel importante.²⁷

Mientras que la edad y la putrefacción puede producir efectos degradativos en proteínas de la sangre, estos efectos no suelen ser lo suficientemente grave como para evitar que el examinador de la obtención de un resultado positivo. Algunos abogan por el uso de ácido sulfosalicílico para detectar la presencia de proteína reactiva en caso de duda.

La exposición al aire, la luz solar y / o la humedad, a menudo sirve para acelerar los cambios oxidativos en una mancha de sangre, en última instancia, haciéndola menos susceptible a la identificación concluyente.²⁹

El principal efecto observado con manchas de sangre que se han calentado (hirviendo o planchado) está en la drástica extensión del tiempo necesario para disolver una parte de la mancha. La precipitación es a menudo más débil y el tiempo de reacción también se amplía. Estos efectos pueden ser entendidas más fácilmente si se considera cómo las proteínas son vulnerables a la desnaturalización por calor.⁵²

El lavado de una mancha de sangre con jabón o detergentes interferirá con una reacción positiva, sin embargo, simplemente el enjuague con agua por lo general no dan ningún problema.²⁹

Es importante tener en cuenta que las proteínas de suero de una mancha de sangre seca son responsables de la prueba de precipitina positiva. Así, si una cantidad de sangre se deposita en un trozo de tela, con el suero de la saturación de la tela pero un coágulo que queda en la superficie, un raspado del coágulo que se secó sería menos probable que dé un resultado positivo de un corte de la tela que contiene el suero seco.⁵⁴

En la realización de la prueba de precipitina , el extracto de la mancha debe ser a un pH cercano a la neutralidad y la prueba debe ser llevado a cabo a temperatura ambiente.

Cualquier reacción positiva ocurrida después de 20 minutos se cuenta y por lo general con un poco de antisuero, una reacción positiva se puede esperar en menos de cinco minutos.

Los extractos de la mancha deben estar preparados en el menor volumen posible de líquido, teniendo en cuenta la posibilidad de absorción del suero en el material de soporte. Tiempos de extracción de las manchas pueden variar y, a veces hasta 24 horas pueden ser requeridas. Un punto básico a recordar es que siempre que sea posible un control sin mancha y un control de medio de extracción deben procesarse con la muestra cuestionada.⁴⁶

5.1. TÉCNICA DE LAS PRECIPITINAS EN CAPILAR O TUBO (UHLENHUTH).

FUNDAMENTO:

Las moléculas de anticuerpos (inmunoglobulinas) reaccionan con antígenos (proteínas solubles) para formar un precipitado que es fácilmente visible cuando es observado bajo las condiciones de luz correctas o cuando se tiñen correctamente.⁶⁰

Por lo general, la reacción de precipitación entre un antígeno soluble y su anticuerpo específico se producen como consecuencia de varias fuerzas que actúan entre los reactivos: fuerzas de Van der Waals, enlaces de hidrógeno, interacción dipolo, la atracción entre antígeno no polar y superficies de anticuerpos y la atracción electrostática. La reacción misma se lleva a cabo de una manera gradual. Inicialmente, se forman complejos antígeno-anticuerpo solubles. A medida que avanza la reacción, estos complejos comienzan a coalescer y formar una red de moléculas de anticuerpos bivalentes y moléculas de antígeno polivalentes. Esta formación crece rápidamente a un tamaño suficiente para convertirse en insoluble y forma un precipitado visible. Debe tenerse en cuenta, sin embargo, que la reacción requiere una concentración equivalente de antígeno y anticuerpo, tanto para una reacción positiva clara y que un exceso de cualquiera de los dos puede resultar en una prueba negativa.⁶⁰

Esta reacción puede llevarse a cabo en la interfase de dos líquidos en un tubo de ensayo , en un gel como resultado de los dos reactivos que se difunden hacia la otra, o en un electroforetograma con los reactivos después de haber sido puestos en contacto uno con el otro bajo la influencia de un campo electroforético . Cada técnica tiene ventajas sobre los demás y el investigador debe elegir la que más se ajuste a sus necesidades.

En método común para la determinación es la llamada prueba de anillo de Precipitinas o prueba en capilar, se basa en la estratificación cuidadosa de la solución de antígeno a través de la preparación de anticuerpo. Este método es sencillo, rápido y si es necesario puede llevarse a cabo en tubos capilares cuando las cantidades de reactivos son limitados.⁴¹

La precipitación en un medio de gel como se describe por Oudin y de Ouchterlony ofrece las ventajas sobre el método de tubo que el extracto de la mancha no tiene por qué ser claras y se pueden utilizar pequeñas cantidades de reactivos. La desventaja, sin embargo, es que se requiere un tiempo considerable para permitir la difusión necesaria para que se produzca la reacción y se observe el precipitado.

Micro- metodología, sin embargo, ha reducido este 2-3 días a una cuestión de unas pocas horas, aunque la técnica todavía no es tan común como la prueba del anillo.³³

La electroforesis es un procedimiento en el que las partículas cargadas (moléculas de proteínas) son sometidas a un potencial eléctrico en un buffer de pH adecuado y en un medio de soporte adecuado. Debido a las cargas relativas y en cierta medida el tamaño y la forma de las moléculas, que se pueden separar durante la migración.

El método tal como se aplica a la reacción de precipitinas se refiere como cruce o contador de electroforesis.

Tiene las ventajas de la difusión en gel anterior más el efecto de aceleración de la electroforesis en la migración en el gel o medio de soporte. Otra ventaja es que la electroforesis de cruce es más sensible que cualquiera de las técnicas anteriores.

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 positivos.³³

PREPARACIÓN

- El Antisuero policlonal de conejo contra las proteínas sanguíneas humanas (antígenos a precipitar) se puede preparar inoculando a un mamífero no primate con el suero o plasma humano e inyectando esa sangre a un conejo para que produzca anticuerpos anti sangre humana.³³

Muchos antisueros comerciales están disponibles y el químico debe elegir lo que es mejor para él.

- Solución salina fisiológica tamponada: 17 mg de NaCl, 144ml 1/15 M Na₂HOP₄ anhidro (1/15M solución = 9,47 g / L), y 56 ml 1/15 M de KH₂PO₄ anhidro (solución 1/15 M = 9,08 g / l) con agua destilada para hacer 2 litros de solución.
- El pH final 7,2.

PROCEDIMIENTO

Introducir un pequeño fragmento de la mancha junto con unas gotas de solución fisiológica en un tubo de ensayo y se pasa a centrifugar por 1 a 2 minutos a 2500 rpm (860Gs), (El Tiempo requerido para la extracción depende de la naturaleza de la mancha y a menudo sólo un minuto o dos es necesario), después se usa el sobrenadante, el cual se coloca en el tubo de precipitinas, después, se le añaden dos gotas de extracto diluido en el tubo inclinado de modo que el líquido baje por la pared del tubo. Una cantidad igual de antisuero se añade al tubo (todavía inclinado). Se debe tener cuidado de utilizar tubos extremadamente limpios. El tubo se mantiene entonces verticalmente para observarse un anillo de precipitación ante una luz indirecta y fondo oscuro antes de 20 minutos que indica una prueba positiva.⁴¹

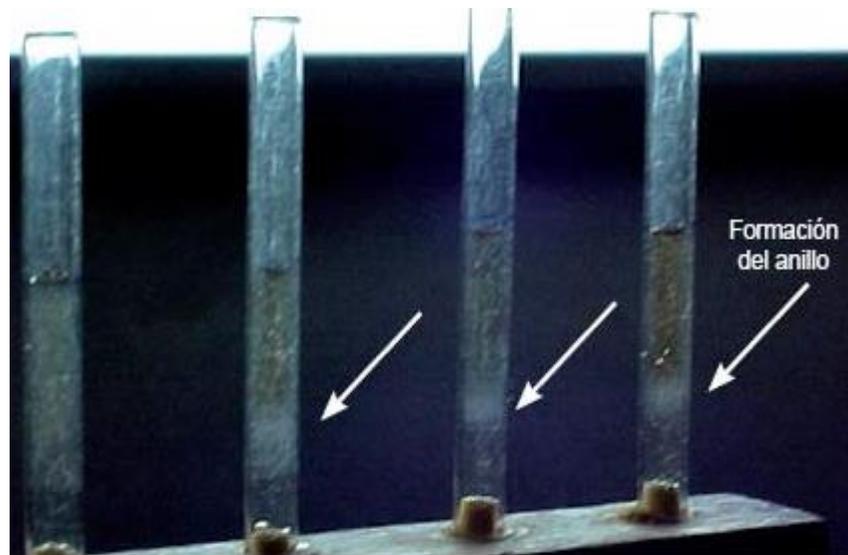


IMAGEN.14. Prueba de precipitinas en tubos capilares.¹⁵

5.2. TÉCNICA DE LAS PRECIPITINAS POR INMUNOELECTROFORESIS O DOBLE DIFUSION

FUNDAMENTO

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 (seroalbúmina, α y β globulinas) y el anticuerpo (γ globulinas); terminada la electroforesis se observan bandas visibles de precipitación entre las perforaciones pares de los materiales proteicos específicos¹⁵

MATERIAL Y EQUIPO

- Cámara de electroforesis con fuente de poder con control de 500V, 20 μ A y control de tiempo
- Puentes de papel filtro
- Perforador y extractor de gel de 2 mm de diámetro y Agar
- Micropipetas graduadas
- Porta objetos desengrasados y pulidos
- Antisuero contra proteínas séricas humanas
- Ácido dietilbarbitúrico, barbital sódico y lactato de calcio.¹⁵

PREPARACIÓN

1. Solución amortiguadora para la cámara de electroforesis con un pH de 8.6
 - Ácido dietilbarbitúrico 1.38 gr
 - Barbital sódico 8.76 gr
 - Lactato de calcio 0.384 gr
 - Agua desionizada 1,000 ml
2. Solución amortiguadora para el gel con un pH de 8.6
 - Ácido dietilbarbitúrico 1.1 gr
 - Barbital sódico 7.0 gr
 - Lactato de calcio 1.0 gr
 - Agua desionizada 1,000 ml
3. Gel: diluir 2gr de Agar en 100 ml de la solución amortiguadora 2.¹⁶

Se prepara una placa de gel de 2.5 ml sobre una cama de gasa húmeda y se deja refrigerar por una hora, o tubos de ensayo con 7ml de gel.¹⁶

PROCEDIMIENTO

1. Colocar en uno de los compartimientos 10 ml de solución amortiguadora 1 y se colocan puentes de material absorbente en los compartimientos laterales y se prepara el extracto muestra o muestras problema, suspendiéndolos en solución amortiguadora 2 por lo menos durante 5 minutos.

2. Se colocan las muestras problema, antisuero y testigo en una horadación de 8 a 10 lambdas y se coloca en la cámara de electroforesis con la polaridad adecuada a 150 v durante 45 minutos

INTERPRETACIÓN

Las bandas de precipitación se harán visibles en la zona entre el antígeno y el anticuerpo cuando hay complementariedad entre el antígeno (Ag) y el anticuerpo (Ac).¹⁵

CAPÍTULO VI

TÉCNICAS PARA LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO SANGUÍNEO EN MANCHAS DE SANGRE

Tipificación de Manchas de Sangre.

Tipificar una mancha de sangre, es encontrar su tipo o grupo dentro de la mayor cantidad posible de sistemas y es fundamental para llegar a la individualización, esto es, llegar a saber a quién pertenece el rastro de sangre.

En sangre fresca, la presencia o ausencia de un antígeno, se determina por la aglutinación o no de los glóbulos rojos puestos en contacto con un antisuero específico.⁸

En manchas de sangre seca los glóbulos rojos están generalmente destruidos y, por lo tanto, las técnicas de aplicación directa no son aplicables; sin embargo los antígenos no se desnaturalizan inmediatamente y retienen la capacidad de combinarse con anticuerpos específicos (métodos indirectos).

Es muy probable que queden en la escena del delito manchas de sangre; si se comprueban que las mismas no pertenecen a la víctima, su estudio es muy importante para localizar al criminal. Por otra parte, si en ropas u objetos pertenecientes a un sospechoso, se encuentran manchas de sangre diferente a la suya y coincidente con la de la víctima, sería una prueba más de culpabilidad. Los sistemas o grupos sanguíneos más aprovechables son los siguientes:

- Sistema ABO: En el cual se manifiestan cuatro grupos sanguíneos: "A", "B", "AB", y "O".
- Sistema MN: En este grupo se consideran tres combinaciones posibles: "MN", "M" y "N".
- Sistema Rh: Los antígenos presentes en este sistema son: D, C, E, c, e, que constituyen el factor Rh (que según la combinación de sus tres alelos, será positivo o negativo).²¹

Factores que Pueden Afectar los Resultados⁹

Entre los factores que pueden influir en obtener un resultado incorrecto, tenemos: la antigüedad de la mancha, la naturaleza del sustrato sobre el cual se encuentra, las condiciones a la que estuvo expuesta, cantidad de muestra, etc.

- La antigüedad de la mancha es de fundamental importancia en lo que respecta a la investigación de anticuerpos. Estos son muy poco estables, por lo que su estudio en el laboratorio debe ser lo más rápido posible.
- No se deben manipular las muestras con las manos sin guantes, ya que los antígenos del Sistema ABO se encuentra, además, en las secreciones: sudor, semen, saliva, lágrimas, etc. en la mayoría de los individuos. Estos son los llamados "secretores". Solo un 20% aproximadamente no manifiestan esta propiedad, que son los individuos "no secretores".
- Otro factor importante es la contaminación bacteriana de la muestra.

Desafortunadamente no todos los sistemas conocidos de agrupamiento de sangre son útiles en su aplicación forense. Algunos son inestables o se deterioran luego de varios días o semanas. Además, factores tales como el calor, luz solar directa, humedad y embalado inadecuado de la evidencia, disminuyen de una u otra forma la posibilidad de llegar a un resultado efectivo.⁹

6.1. DETERMINACIÓN DE GRUPO SANGUÍNEO.

FUNDAMENTO

La presencia o ausencia en los eritrocitos de los antígenos del grupo A (N-Acetilgalactosamina) y B (Galactosa), determinan los cuatro grupos del sistema: A, B, AB y O (éste denota ausencia de A y B).

Existe la presencia de anticuerpos anti-A y anti-B, en el suero de individuos cuyos eritrocitos no contienen el correspondiente antígeno o aglutinógeno y que se presenta en la tabla a continuación:⁸

GRUPO	SUBGRUPO	AG ERITROCITARIO	AC SERICO
O	-	Ninguno	Anti-A1 Anti-A Anti-B
A (N-Acetilgalactosamina)	A1 A2	Ati-A1+ A A	Anti-B Anti-A1
B (Galactosa)	-	B	Ati-A1 Anti-A
AB	A1B A1B	Anti-A1 + A + B A + B	NO Anti-A1

TABLA 11. Tabla que muestra los antígenos y anticuerpos para cada grupo sanguíneo.⁵⁰

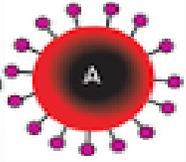
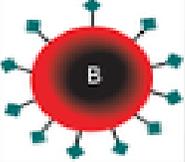
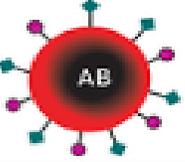
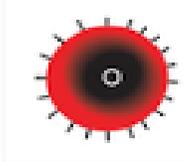
	Grupo A	Grupo B	Grupo AB	Grupo O
Sangre roja célula				
Anticuerpos	 Anti-B	 Anti-A	Ningunos	 Anti-A y Anti-B
Antígenos	 A antígeno	 B antígeno	 A y B antígeno	No antígenos

IMAGEN.15. Antígenos y anticuerpos presentes en los grupos sanguíneos.⁵⁰

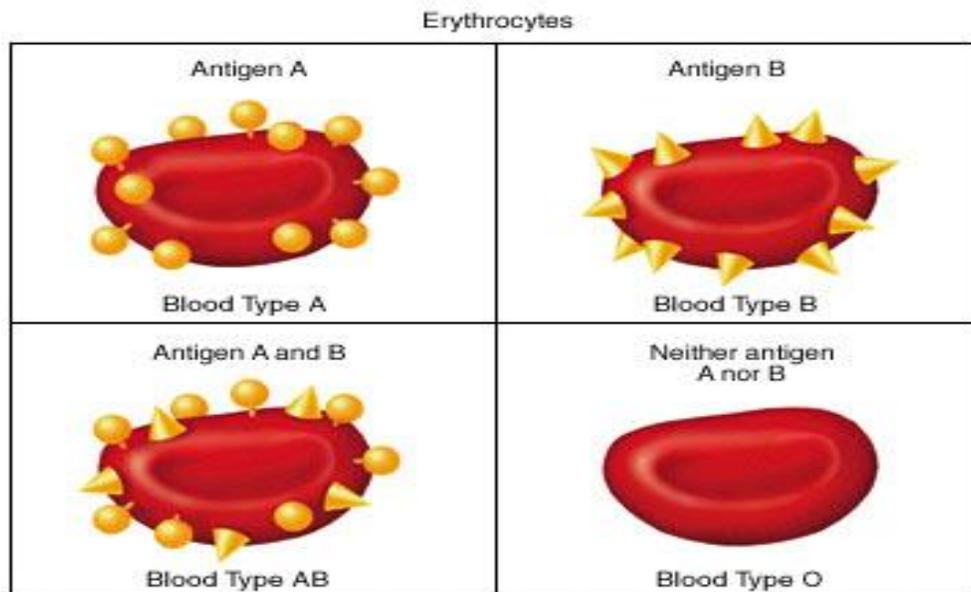


IMAGEN. 16. Antígenos presentes en cada grupo sanguíneo.⁴³

6.1.1. PREPARACIÓN DE MUESTRAS DE SANGRE EN PERSONAS VIVAS.

- Se obtienen 5 ml de sangre venosa.
- Separar el suero por centrifugación.
- Hacer una suspensión del paquete globular al 2% en el propio suero para efectuar determinaciones en tubos de ensayo, y al 5% para determinación en placa.³⁵

Material empleado.

- Centrífuga calibrada a 3,400 r.p.m. (1590 Gs)
- Tubos de ensayo
- Placas hemoclasificadoras
- Pipetas Pasteur
- Aplicadores de madera
- Solución salina fresca y estéril (8.5 gr de cloruro de sodio disueltos en 1,000 ml de agua destilada).
- Suero humano hemoclasificador:
 - Anti-A
 - Anti-B
 - Anti-Rh

6.1.2. PREPARACIÓN DE MUESTRAS DE SANGRE EN CADÁVERES.

Se obtienen 5 ml de sangre no contaminada de cualquier vaso o de cavidad cardíaca. Centrifugar para separar y lavar el paquete globular tres veces con solución salina, desechando el sobrenadante y hacer una suspensión al 2% en solución salina para la determinación en tubo de ensayo y al 5% para determinación en placa.³⁰

6.1.3. PREPARACIÓN DE MUESTRAS DE SANGRE EN COÁGULOS.

Exprimir contra las paredes del tubo el coágulo con la ayuda de un aplicador, para lavarse con solución salina tres veces lo extraído y hacer las suspensiones al 2 y 5% para la determinación en tubo y placa.³⁰

Metodología

El mayor grado de confiabilidad se obtendrá si se realiza la prueba en tubo, pero es prudente emplear las dos técnicas. Para caracterizar de una forma más completa una sangre, se requiere en ocasiones de la determinación de los grupos antigénicos M y N. en ese caso se procede de forma idéntica que en los procedimientos siguientes, sólo que usando reactivos correspondientes a ese grupo sanguíneo.

Material empleado

- Centrífuga calibrada a 3400 rpm (1590 Gs)
- Tubos de ensayo de 12 X 75
- Laminillas portaobjetos o placas hemoclasificadoras
- Pipetas Pasteur
- Bulbos de goma
- Aplicadores de madera
- Sueros hemoclasificadores para el sistema ABO:³⁰
 - Anti-A
 - Anti-B
 - Anti-AB
 - Anti-D



IMAGEN.17 Antígenos comerciales para la determinación de grupo sanguíneo.²⁹

6.2. TÉCNICA PARA LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO SANGUÍNEO EN PLACA.

- a) Preparar suspensiones de eritrocitos al 5% en solución salina
- b) Colocar una gota de antisueros en cada pocito de la placa previamente rotulada
- c) Añadir sin mezclar y a un lado de las gotas de antisueros, una gota de la suspensión elaborada en a)
- d) Mezclar la suspensión de eritrocitos y el antisuero con ayuda de un aplicador
- e) Observar macro y microscópicamente la presencia o ausencia de aglutinación a los 30 segundos.¹⁹

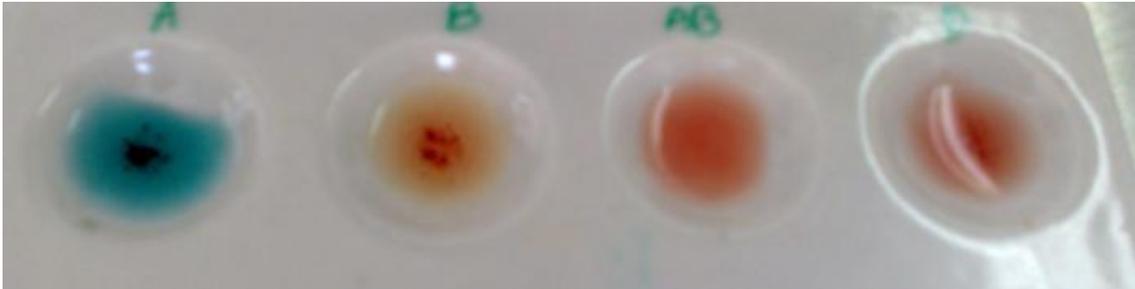


IMAGEN.18. Determinación de grupo sanguíneo en placa.¹²

Interpretación de los resultados

Si se observa aglutinación en el tubo o pocito A, la sangre corresponderá a ese grupo. De aglutinar en el tubo o pocito B, la sangre será grupo B.

La presencia de aglutinación en el tubo o pocito D indicará que el factor Rh es positivo, y de lo contrario (no hay aglutinación) será Rh negativo.

Cuando no aglutina ni el tubo o pocito A ni el B, el tipo de sangre es O.¹⁵

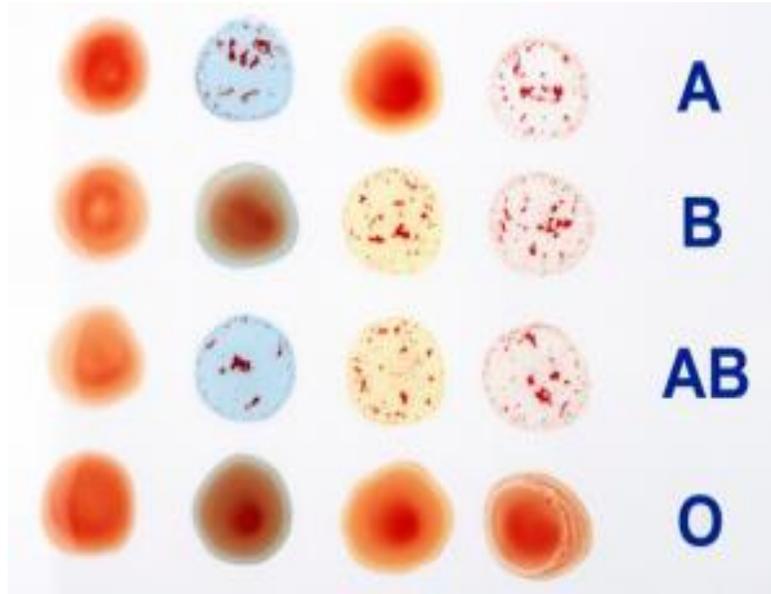


IMAGEN. 19. Interpretación de resultados en determinación de grupos sanguíneos en placa.¹⁴

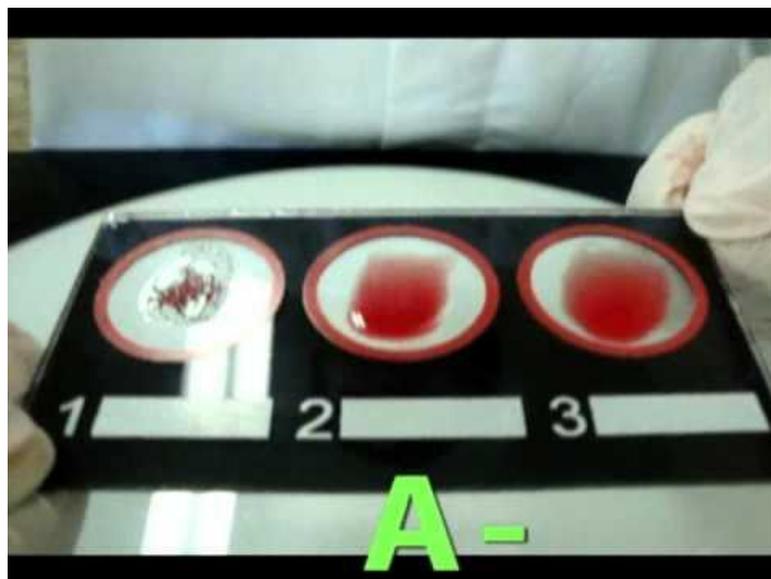


IMAGEN.20. Determinación del grupo sanguíneo A , Rh negativo en placa.¹²

6.3. TÉCNICA PARA LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO SANGUÍNEO EN TUBO.

- a) Preparar suspensiones de glóbulos rojos al 2% en solución salina
- b) Colocar una gota de cada antisuero en un tubo cada uno, previamente rotulado
- c) Añadir a cada tubo una gota de la suspensión de eritrocitos preparada en a)
- d) Mezclar y centrifugar el contenido de los tubos durante 15 segundos, excepto del marcado como Rh, el cual se centrifugará 90 segundos
- e) Agitar suavemente para desprender el botón globular y observar la presencia o ausencia de aglutinación.¹⁹



IMAGEN.21. Determinación de grupo sanguíneo en tubo.⁵⁷

6.4. TÉCNICA DE LATTES

A) Primera Prueba:

Se prepararan las suspensiones de eritrocitos al 2% de sangre humana (A, B, AB, O) y se montan controles de estas suspensiones para verificar su viabilidad. Se montan cuatro placas rotuladas con A, B, AB y O. Se colocan las manchas en cada placa y luego se les agregaron dos gotas de las suspensiones de eritrocitos respectivamente, se ponen las placas (portaobjetos) en cámara húmeda (consisten en poner dentro de una caja Pétri un papel filtro y humedecerlo con soluciones salinas al 0.9% se colocan dos trozos de hisopos para evitar el contacto de las pacas, con el medio líquido), luego se dejan durante 15 minutos a temperatura ambiente, pasado este tiempo se observa al microscopio (con el objetivo 10x y 40x).⁵⁵

B) Segunda prueba:

En esta segunda prueba del montaje de la técnica, se dejan las cámaras húmedas en incubación a ocho grados centígrados por 24 horas, pasado este tiempo se observa nuevamente en el microscopio y se anotan los resultados.⁵⁵

Materiales

Suspensión de sangre humana al 2 %, 10 ml de cada grupo puesto a secar en gasa.

Portaobjetos..... 3' x 1'

Cubreobjetos.....22 x 22 mm

Pipetas.....50 µl

Cajas Pétri..... 90 x 24 mm

Papel filtro.....110mm x 100 de circunferencia

Hisopos..... mango de madera doble

Agua destilada

Tubos de ensayo12 x 75 mm

Solución salina al 0.9 %

Pinzas de acero inoxidable

Tijeras de acero inoxidable

Equipos

- Microscopio.
- Centrifuga
- Refrigerador . Temperatura de 1 a 5 grados centígrados.
- Resultados de observaciones con el objetivo de 40x

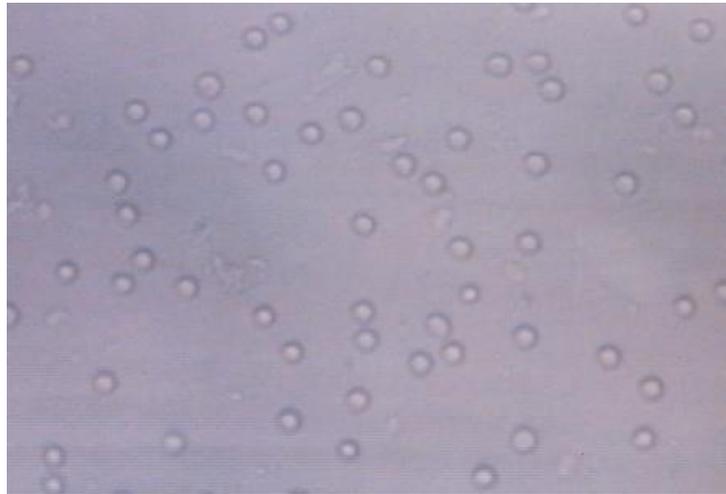


IMAGEN.22. Reacción Negativa (No aglutinación) observada En el método de Lattes, de sangre humana. Microscopio 40x.⁵⁵

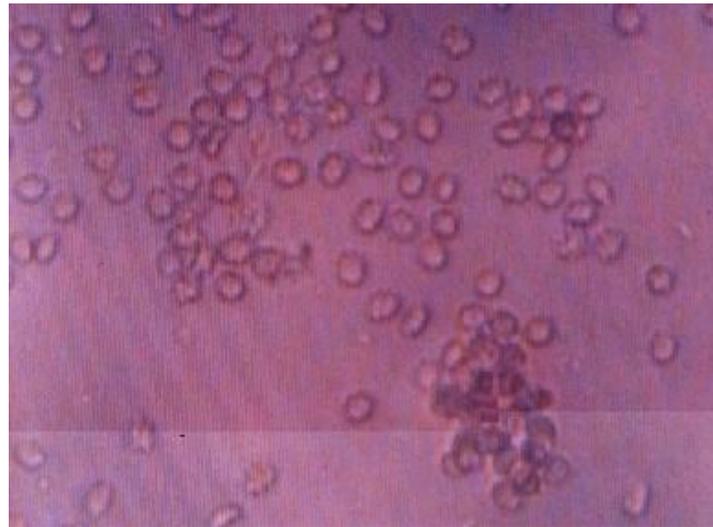


IMAGEN. 23. Reacción Positiva (Aglutinación) observada en Método de Lattes, de sangre, Microscopio 40 x.⁵⁵

6.5. TÉCNICAS PARA LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO SANGUÍNEO DEL SISTEMA ABO EN MANCHAS DE SANGRE SECA.

PRINCIPIO

En estas circunstancias, los eritrocitos se han hemolizado por lo que no son posibles las pruebas de aglutinación directa, sin embargo los antígenos del sistema ABO conservan cierta capacidad de combinarse con anticuerpos específicos con formación de aglutinación antígeno-anticuerpo específica usado 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-elución.¹⁴

6.5.1. TÉCNICA DE ABSORCIÓN – ELUCIÓN

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 pero también puede usarse en el sistema MN y para el sistema Rh que son más difíciles por su inespecificidad. 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 soluble¹⁴

MATERIAL EMPLEADO

1. Sueros hemoclasificadores Anti-A y Anti-B.
2. Metanol
3. Na₂HPO₄.
4. KH₂PO₄
5. NaCl
6. Tubos de ensayo
7. Pipetas Pasteur
8. Bulbos de goma
9. Tijeras
10. Aplicadores de madera
11. Guantes desechables
12. Tela estéril y sin apresto, de algodón
13. Gradillas para tubos de ensayo

14. Refrigerador
15. Centrifuga
16. Baño María a temperatura constante
17. Horno

REACTIVOS

1. Buffer salino
 - a) Solución de Na_2HPO_4 (9.47 gr/ lt)
 - b) Solución de KH_2PO_4 (9.08 gr/ lt)
2. Buffer final

A 72 ml de la solución a), añadir 50 ml de la solución b) y 8.5 gr de cloruro de sodio, aforar a 1,000 ml en matraz volumétrico (pH de 7.2).
3. Preparación de los antisueros

Los antisueros anti-A y Anti-B, se diluyen de la siguiente manera: a 1 ml de antisuero, se añaden 10 ml de solución Buffer final.¹⁹

PROCEDIMIENTO

1. Cortar cuatro fragmentos de tela impregnada con sangre problema, que medirán 3 x 3 mm (cuando la mancha problema no se encuentre sobre tela, absorberla con solución salina en pequeños trozos de tela de algodón color blanco, sin apresto y esterilizada, que en caso necesario puede secarse en la estufa) y colocar cada recorte en los tubos necesarios.¹⁴
2. Los tubos se colocan en una misma columna de una gradilla, columna que se marcará como problema.
3. En la forma antes descrita se prepara otra serie de tubos en cuyo interior se colocarán fragmentos de tela manchados con sangre de grupo conocido: A, B, AB y O, marcándose tal columna como testigo.
4. Se coloca otra serie de tubos que contengan fragmentos de una parte de tela en estudio, que no se encuentre maculada con sangre y se pondrán en una tercera columna señalada como control.
5. Fijar las manchas de sangre impregnadas en la tela, cubriéndolas con metanol cuando menos durante 15 minutos. Después de ese tiempo eliminarlo totalmente.
6. Agregar a cada tubo de la hilera Anti-A, dos gotas de suero anti-A; a los de la hilera Anti-B, suero Anti-B.

7. Dejar en refrigeración durante toda la noche a 4°C.
8. Después de ese tiempo, lavar con solución salina fría 6 veces o hasta obtener una solución clara e incolora.
9. Añadir a cada tubo dos gotas de solución salina a temperatura ambiente.
10. Colocar la gradilla en el baño maría a 56 °C durante 10 o 15 minutos.
11. Sacar cuidadosamente los trozos de tela con un aplicador de madera, diferente para cada tubo.
12. Agregar una gota de glóbulos lavados a 2%:
 - Del grupo A a los tubos de la hilera A
 - Del grupo B a los tubos de la hilera B(problemas, control y testigos)
13. Centrifugar durante 30 segundos a 3,400 rpm.(1590 Gs)
14. Observar si existe o no aglutinación.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

1. Si hay aglutinación en el tubo problema de la hilera marcada como Anti-A, el grupo corresponderá a A.
2. Si hay aglutinación en el tubo problema de la hilera marcada como Anti-B, el grupo corresponderá a B.
3. Si hay aglutinación en ambos el grupo será AB.
4. Si no se observa aglutinación en ningún tubo, el grupo será O.¹⁴

6.5.2. TÉCNICA DE ABSORCIÓN-INHIBICIÓN.

El material antigénico se coloca en contacto con su anticuerpo homólogo a fin de efectuar su adsorción específica; el anticuerpo en el sobrenadante se observa con eritrocitos de propiedades antigénicas conocidas por lo que se tendrán siempre testigos del grupo conocido.¹⁵

PREPARACIÓN

- Solución: amortiguadora o tampón
 - Solución a: solución de fosfato ácido de sodio Na_2HPO_4 1/15 molar (9.47 gr./lt)
 - Solución b: Na_2HPO_4 1/15 molar (9.08 gr./lt)
- Solución amortiguadora final: servir 72 ml de sol. a en un matraz volumétrico de 1,000 ml y agregar 28 ml de la sol. b y aforar a 1,000 ml con solución salina (8.5 gr. de NaCl en 1000 ml de agua destilada); debiendo obtener un pH de 7.2
- Sueros:
 - -Anti-A: diluir 3.5 ml de suero con 450 ml de solución amortiguadora pH 7.2
 - Anti-B: diluir 1.0 ml de suero en 450 ml de solución amortiguadora pH 7.2
 - Anti-H: se utiliza sin diluir
- Células conocidas:
 - Lavar tres veces con solución amortiguadora pH 7.2 a los eritrocitos conocidos de los grupos O, A2 y B, y hacer una suspensión al 2%

PROCEDIMIENTO

Colocar fragmentos de 3 mm² de la tela impregnada de la muestra problema en tubos en las hileras anti-A, anti-B y anti-H, y servir tres gotas de los sueros en las respectivas hileras¹⁵

INTERPRETACIÓN

O = aglutinación anti-A y anti-B, pero no anti-H

A1 = aglutinación anti-B y anti-H, pero no anti-A

A2 = aglutina anti-B, pero no anti-A, ni anti-H

B = aglutinación anti-A y anti-H pero no anti-B

AB = aglutina anti-H pero no anti-A, ni anti-B¹⁵

6.6. TÉCNICA PARA LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO SANGUÍNEO DEL SISTEMA M-N EN SANGRE SECA.

Esta técnica deberá realizarse preferentemente por un experto en la materia por sus dificultades técnicas

6.6.1. TÉCNICA DE ABSORCIÓN-ELUCIÓN DEL SISTEMA M-N

PREPARACIÓN

1. Se colocan cuadros de 1.5 mm² en las columnas de las gradillas correspondientes al problema, testigo y control; en este caso no se fijarán con metanol como en el sistema ABO
2. Agregar una gota de anti-M sin diluir a la hilera de la gradilla correspondiente y una gota de anti-N en la correspondiente, asegurándose que se cubra la muestra.
Se deja en refrigeración toda la noche a 4°C
3. Se lava por cinco ocasiones con solución salina y se agregan 3 gotas de células conocidas de M y N en las hileras correspondientes y eluir a 56°C. durante 15 minutos; agitar mecánicamente durante 25 minutos y leer la aglutinación y tener la interpretación ⁷

INTERPRETACIÓN

- M = si aglutina en la hilera M
N = si aglutina en la hilera N
MN = si aglutinan ambas hileras

6.7. TÉCNICA PARA LA DETERMINACIÓN DEL FACTOR Rh EN SANGRE SECA POR ABSORCIÓN-ELUCIÓN

Para la determinación es necesario contar con una muestra de sangre fresca del grupo "O" que contenga los cinco antígenos del sistema Rh (R1 R2)

PREPARACIÓN ⁷

Estas células se prepararán antes de ser utilizadas a partir de una muestra de sangre característica* que se lava tres veces con solución salina y tratarla con bromelina comercial diluida 1:10 con solución amortiguadora de pH 5.7 y que se prepara de la siguiente manera:

Solución amortiguadora de fosfatos pH 5.7

14 Vol. de Na₂HPO₄ 0.2 molar

14 Vol. de NaH₂PO₄ 0.2 molar

15 Vol. de agua bidestilada

1. Servir dos gotas de glóbulos lavados de R1R2 en un tubo de ensayo
2. Servir 0.1 ml. de sol. de bromelina y 0.9ml de solución amortiguadora en el tubo2 (enzima diluida) y mezclar y colocar el tubo en la centrífuga por 5 a 6 minutos a 2500 rpm.(860 Gs)
3. Añadir cuatro gotas de la solución amortiguadora con bromelina al tubo 1 y mezclar, colocándolo en incubación a 37°C. Durante 10 minutos y sacarlo, para llenarlo con solución salina estéril y centrifugar a 2500 rpm (860 Gs). Inmediatamente y lavar tres veces con sol salina para eliminar el sobrenadante, dejando el paquete globular en cada lavado, y suspender finalmente al 3.5% aproximadamente.⁷

Preparación de las muestras:

1. Dilución de los sueros
 - diluir los sueros anti-D y anti-C con una gota de suero por ocho gotas de solución salina (dilución 1:10)
 - los sueros anti-C, anti-E y anti-e se diluyen en proporción de 1:2
 - la solución albúmina sérica bovina se diluye al 1.5% son solución salina
2. Se fragmenta la tela manchada de sangre problema como con sangre testigo de 3 X 3 para ésta y de 4 X 4 para los grupos "C", "E" y "e"

APLICACIÓN

1. Se colocan los fragmentos de la tela en sus respectivos tubos y añadir una gota de antisuero específico en cada tubo correspondiente a la dilución 1:2, tapar y colocar en la gradilla e incubar a 37°C. Toda la noche.
2. Lavar con solución salina, con cambio de seis veces cada 20 minutos durante dos horas.
3. Drenar la última solución salina y servir tres gotas de albúmina diluida a cada tubo para la elusión.
4. Incubar durante 40 min. en baño de agua a 60°C. sin tapar; los tubos del baño y retirar con ayuda de aplicadores de madera los fragmentos de tela y agregar células testigo H1R2 tratadas con bromelina, tapar los tubos e incubar a 37°C durante hora y media.
5. Leer macroscópicamente y anotar los resultados; pasar el contenido de cada tubo a una laminilla que contenga una gota de solución salina, mezclar y observar al microscopio.

En Criminalística, es importante la identificación del Grupo Sanguíneo al que Pertenece la o las muestras de sangre encontradas en la escena del crimen, ya que con este dato, si bien no se puede identificar de manera individual al causante, sí lo puede clasificar dentro de un grupo de sospechosos, con los que puede cotejar resultados.

A esta evidencia se le llama de tipo Clasal.³¹

La información genética del grupo sanguíneo Rh, también es heredada de nuestros padres, pero de una forma separada del sistema ABO.

Hay dos informaciones distintas, (alelos), y se denominan Factor Rh positivo y Factor Rh Negativo. Esto debido a la presencia o ausencia del antígeno o sustancia denominada Factor Rh.

La búsqueda de este factor en casos criminalísticos no se le brinda mayor importancia, debido a que es un antígeno muy débil, y es muy difícil identificarlo en indicios con muestras de sangre. Y que también la mayoría de la población lo presenta.

La identificación del Factor Rh, es útil para fines transfusionales.²⁵

Para que por medio de la muestra de sangre usada como evidencia de un delito sea posible identificar a que persona pertenece se utilizan estudios de marcadores genéticos y pruebas de ADN.

Los marcadores genéticos forman parte del sistema de histocompatibilidad, y son otras sustancias presentes en la sangre, que se identifican como otros grupos sanguíneos y cuya tipificación serológica es una técnica importante que sirve también para la identificación de los Alelos HLA (sustancias), presentes en una persona, puesto que los resultados se obtienen de manera rápida y eficaz, además, como pruebas orientativas, puede servir como apoyo para las pruebas confirmatorias como ADN.³

Los resultados esperados para la orientación en la identificación positiva de un individuo determinado, es que para el conjunto de marcadores genéticos escogidos, exista una identificación o concordancia que para fines estadísticos, debe ser de igual o mayor a 8 marcadores identificados positivamente.

Es necesario recalcar que la interpretación de los resultados debe ser cuidadosa y referenciada a un grupo de población específico, respecto al cual pertenezca el individuo a identificar desde el punto de vista forense.

La diferencia principal entre los resultados de la clasificación hemática y los resultados que nos proporciona el análisis de ADN, es que la clasificación hemática nos informa sobre un resultado de tipo clasal, grupos "A", "B", "AB" u "O", es decir pertenece a un grupo de individuos, o a un porcentaje de la población que presenten el mismo grupo sanguíneo, o que presenten algunos de los marcadores genéticos, sin llegar a individualizar. Más sin embargo el análisis genético de ADN, individualiza e identifica a la persona, estos estudios son realizados si así lo requiere el caso.³

VI. ANÁLISIS DE RESULTADOS.

El Químico Farmacéutico Biólogo es un profesionista que posee los conocimientos, habilidades y aptitudes para actuar como individuos conscientes de la realidad social, económica y cultural de nuestro país, comprometidos en las decisiones y responsabilidades que conlleva su campo profesional, establecer una buena relación con sus compañeros de trabajo en las distintas áreas en que incursiona el Q.F.B., participando en equipos inter y multidisciplinarios con actitud de apertura y respeto, y con una identidad bien definida.

Dando así respuesta a las necesidades sociales en el campo relacionado con su quehacer profesional, siendo propositivo e innovador, actuando siempre de acuerdo a las normas éticas y de acuerdo a la normatividad vigente, con un alto sentido de responsabilidad y compromiso.

Por tanto, es apto para desempeñarse en el área de análisis clínicos participando en la realización e interpretación de las pruebas de laboratorio para contribuir al diagnóstico, mostrando siempre responsabilidad, compromiso y actitud de servicio.

Participar en el campo de la ciencia y tecnología. Desarrollar actividades en diversas áreas de la química tales como forense y ambiental entre otras, coadyuvando a la resolución de la problemática regional, estatal y nacional comprometidos y consistentes de su entorno, así como una actitud de constante superación personal y profesional que les permita participar en la solución satisfactoria de las necesidades que la sociedad demande.

El Químico Farmacéutico Biólogo es capaz de realizar una práctica profesional creativa transformadora, aplicando sus conocimientos teórico-metodológicos en diferentes ámbitos del sector productivo tales como la química forense, explotando sus habilidades y destrezas como:

- Observación, análisis y síntesis.

- Creatividad e inclinación por el descubrimiento y la resolución de problemas.

- Destreza manual para el manejo de equipo, instrumentos y material de laboratorio.

La Química Forense es otra alternativa a los muchos caminos que puede seguir un Químico Farmacéutico Biólogo en el ámbito de la investigación, además de ser una buena opción para hacer aportes significativos a la sociedad, donde su actuar, junto con su alto nivel de conocimiento analítico y su capacidad de manejo instrumental, es de vital importancia para descifrar las evidencias y contribuir a la búsqueda de la verdad.

Uno de los principios fundamentales en los cuales se rige la Ciencia Forense y específicamente la Química Forense se basa en la premisa de que cuando dos objetos entran en contacto, habrá un intercambio entre los dos. Es decir, “cada contacto deja un rastro”, frase que popularizó Edmund Locard, padre de la Criminalística moderna, es por esto que el Químico Forense rastrea este intercambio entre materiales y trae a la luz lo que es invisible a los ojos basándose en sus conocimientos y en las tecnologías desarrolladas, tiene la capacidad de rastrear sustancias o huellas que éstas dejan en una escena del crimen.

Entender la evidencia requiere de herramientas provenientes de muchas disciplinas como la Química Analítica, la Biología, Ciencias de los Materiales y Genética. De hecho, el análisis de ADN está haciendo que el conocimiento en genética sea de mucha importancia.

Con el paso del tiempo la Química Analítica ha adquirido una gran importancia en la investigación criminal, sobre todo a la hora de conocer la naturaleza de cualquier sustancia o elemento sirviendo como auxiliar en la investigación científica de los delitos.

Por lo tanto los químicos forenses tienen tres tareas principales: primero, analizar las evidencias en el laboratorio, luego, se interpreta la información que se obtiene de ellas y por último, se puede llegar a defender lo encontrado, mediante la testificación del químico forense en un juicio.

El estudio de la sangre por medio de las técnicas descritas en este trabajo, da la pauta para entender de manera más clara las pruebas de identificación de un individuo por medio del ADN si estos fuesen necesarios, aunque estos no sean descritos en este trabajo.

VII. CONCLUSIONES.

Las técnicas de orientación como son la reacción de bencidina (ADLER), reacción de la fenoltaleína reducida (Kastle-Meyer), reacción de leuco-malaquita verde (Hunt), técnicas espectroscópicas, luminol y fluoresceína.) y las técnicas de confirmación como la técnica de cristales de hemina (Teichmann) y la técnica de cristales de hemocromógeno (Takayama) son las principales herramienta en el lugar de estudio de manchas de sangre en caso de investigación judicial.

Se recopilaron las diferentes técnicas de identificación de sangre en manchas de interés forense, tales como reacción de bencidina (ADLER), reacción de la fenoltaleína reducida (Kastle-Meyer), reacción de leuco-malaquita verde (Hunt), técnicas espectroscópicas, luminol, fluoresceína, técnica de cristales de hemina (Teichmann), técnica de cristales de hemocromógeno (Takayama), técnica de las precipitinas en capilar o tubo (UHLENHUTH), técnica de las precipitinas por inmunoelectroforesis o doble difusión, determinación del grupo sanguíneo en placa, técnica para la determinación del grupo sanguíneo en tubo, técnica de Lattes, técnica de absorción-elución y técnica para la determinación del factor Rh en sangre seca, para elaborar un documento con la información suficiente para realizar de manera adecuada el trabajo en el laboratorio forense y ser un documento de apoyo a los profesionistas interesados en el área.

Se enfatizó que las diferencias entre las técnicas tiene como fin el uso de la mejor metodología acuerdo a los diferentes tipos de muestras sanguíneas.

Se amplió el conocimiento con respecto a los fundamentos químicos de las técnicas para la mayor comprensión en los resultados.

Se marcó la importancia y la manipulación adecuada que tiene la sangre en la identificación de las personas involucradas en un hecho criminal mediante las distintas técnicas y el conocimiento químico.

Se destacó a la sangre como el indicio más importante en un hecho criminal, pues su frecuencia es inevitable y su estudio nos permite reconocer a la víctima y al victimario de manera científica para ayudar a la impartición de justicia.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Alvarez, J. (2009). *ADNmt y Cromosoma Y. Aplicaciones y Limitaciones*. Laboratorio de identificación genética. Departamento de Medicina Legal, Universidad de Granada. España.
2. Arriete, G. (2006). *Nociones de Identificación Forense en la Tipificación de DNA*. Argentina :Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Tucuman,.
3. Astillo, U. (2005). *Identificación de criminales a través del ADN*. Santiago, Chile: Facultad de Derecho. Pontificia Universidad Católica de Chile.
4. Barbera, F. (2003). *Técnica Policial. Métodos Modernos de Investigación Policial*. Bogotá, Colombia:Comares.
5. Benziguer, E. (2002). *Forensic Detection of Semen*. España: Forensic Science International.
6. Campos, E. (2006). *Legal Medicine. 4th ed*. New York: Mac Millan Company.
7. Castello, P. (2010). *Manual de química forense*. España: Comares.
8. Castillo, I. (2011). *Determinación de Grupo Sanguíneo ABO en Mancha seca*. Colombia: Instituto Nacional de Ciencias Forenses. Medicina Legal.
9. Castillo, M. (2007). *Determinación de Grupo Sanguíneo ABO en Mancha seca*. Colombia: Instituto Nacional de Ciencias Forenses. Medicina Legal.
10. Castillo, P. (2009). *Análisis de Pelos en la Investigación Forense*. Bogota: Instituto nacional de Medicina Legal y Ciencias Forense.

11. Chris, S. (2014). *Hematología*. México: El Manual Moderno.
12. Cox, M. (2001). *A Study of the Sensitivity and Specificity of Four Presumptive Tests for Blood*. New York: Mac Millan Company.
13. Díaz, R. (2011). *Patrones de sangre*. Puerto Rico: Seminario de Ciencias Forenses. Instituto Nacional de Ciencias Forenses.
14. Douglas, W. (2000). *Hair, Fibers, Crime and evidence*. Washington, DC:Forensic Science Communications.
15. Franco de Ambriz, M. (2009). *Hematología Forense y otras técnicas serológicas*. México: Porrúa.
16. Fuentes, V. (2006). *Del indicio a la evidencia. Técnicas criminalísticas*. Granada, España: Comares.
17. Gómez, E. (2003). *Tópicos de medicina forense*. México: SISTA México.
18. González, B. (2011). *Metodología analítica en muestras de sangre y contenido gástrico*. México: Ciencia Forense INACIPE.
19. González, S. 2011. *Fenotipos Débiles del Antígeno A (Sistema ABO de Grupos Sanguíneos) en Donantes de Sangre*. Cuba: Instituto de Hematología e Inmunología.
20. Gross, M. (2000) .*The effect of Luminol in Presumptive Tests and DNA Analysis using the Polymerase Chain Reaction*. Washington: Journal Forensic Science.; 44 (4): 837-840.
21. González, M. (2008). *Guía para Recolección y Manejo de Vestigios Biológicos Susceptibles de Análisis Genéticos*. Bogotá: Biología Forense. Dirección Regional. Instituto de Ciencias Forenses.

22. González, O. (2003). *Guía General de Investigación de Escena*. Puerto Rico: Instituto de Ciencias Forenses.
23. Gutiérrez, C. (2008). *Manual de Ciencias Forenses y Criminalística*. México: Trillas. 2ª. Edición.
24. Guzmán, S. (2000). *Manual de criminalística*. Buenos Aires: la Roca.
25. Guzmán, U. (2006). *Guía de recomendaciones para la colección, envío de muestras evidencias y exámenes forenses* Instituto de investigaciones forenses. La Paz, Bolivia: Reverté.
26. Huchmeister, M. (2000). *Evaluation of Prostatic Specific Antigen*. U.S.A: Journal Forensic Science.
27. Inguarán, M. (2007). *Manual único de criminalística*. Bogota, Colombia : Fiscalía General de la Nación.
28. Jenkins, A. (2008). *Drugs testing in alternative biological specimens*. United States: Yale.
29. Matthew, E. (2010). *Química e investigación criminal, una perspectiva de ciencia forense*. México: I Reverté.
30. Martín, A. (2009). *Estudio de Manchas de Sangre sobre Tela de Raso*. España: Universidad del. Mendoza.
31. M. Caro. P. (2004). *Manual de Química Forense*. Buenos Aires, Argentina: la Roca.
32. Martínez, S. (2010). *Medicina Legal*. México: Méndez. 18ª. Edición.
33. Moreno, G. (2011). *Los indicios biológicos del delito*. México: Colección Criminalística. Tomo 7. Editorial UBIJUS. INACIPE. 3ª. Edición.

34. Moreno, R. (2011). *El químico forense en la investigación criminalística*. México: Ciencia Forense INACIPE.
35. Muñiz, L. (2004). *Apuntes básicos para la electroquímica. Reacciones de óxido reducción*. México: Méndez.
36. Negre, M. (2008). *Manchas de sangre, Seguridad en pruebas de orientación*. México: INACIPE.
37. Perea, A. (2011). *Guía para la preservación de las pruebas en el lugar del hecho*. Argentina :La Rioja.
38. Puzza, F. (2006). *Prácticas de Bioquímica y Biología Molecular*. Colombia: Práctica 8. Propiedades generales y propiedades de las enzimas: Estudio de la peroxidasa. Centro educativo Colombia.
39. Prueger, E. (2009).. *Investigación analítica de Homicidios*. Colombia: Criminalística Aplicada.
40. Raffo, O. (2004). *La Muerte Violenta*. Buenos Aires .Universidad. Buenos Aires.
41. Robert, R. (2005). *The effect of luminal on the serologic Analysis of Dried Human Bloodstains*. Washington: Serology Unit. FBI.
42. Sánchez, C. (2006). *Manual de Técnicas para el Debate*. Bogotá: Mac Graw Hill.
43. Shanan, T. (2012). *Evaluation of six presumptive test for blood*. U.S.A: Journal of Forensic Sciences.
44. Valero, R. (2009). *Introducción a la Criminalística*. Colombia: Facultad de Investigación Criminal, Dirección Nacional de Escuelas Policía Nacional de Colombia.
45. Vargas, E. (2013). *Medicina Forense Criminalística*. México: Trillas.
46. Vargas, E. (2000). *Biología Forense. Fluidos del Cuerpo Humano*. Puerto Rico: Señal Editora.

47. Wanda, L. (2007). *Fluidos Corporales en investigación* . Puerto Rico: Señal Editora.
48. Wanda, K. (2004). *Evaluation Of three Rapid Detections Methods of Forensic Identifications of Seminal Fluid*. Washington D.C. : Journal Forensic Science. July 7.-. Vol. 49 No. 4.

Páginas de Internet

49. ICESI.org.mx (Instituto Ciudadano de Estudios Sobre la Inseguridad)
50. http://es.wikipedia.org/wiki/Circulaci%C3%B3n_de_la_sang
51. <http://books.google.com.ar/books?id=aM6hNdjHRSgC&pg=>
52. <http://www.scribd.com/doc/13328121/La-Criminalistica>
53. [http://www.scribd.com/doc/4877732/Introducción a la-Biología-
Forense](http://www.scribd.com/doc/4877732/Introducci%C3%B3n_a_la-Biolog%C3%ADa-Forense)
54. <http://www.enotes.com/forensic-science/time-death>
55. <http://www.scribd.com/doc/6625953/Clase005-Manchas-Bioquimica-Forense>
56. <http://www.plosone.org/article/info:doi/10.1371/journal.pone.0005110>
57. <http://books.google.com.ar/onepage&q=fisica%20general&f=false>
58. <http://www.arqhys.com/construccion/ceramica-tipos.html>
59. <http://www.cricyt.edu.ar/ladyot/catalogo/cdandes/cap06.htm>
60. <http://hnnbiol.blogspot.com.ar/2008/11/tejido-sanguineo.htm>
61. [http://www.um.es/bbmbi/Docencia/Practicas/Medicina/PracticasLaboratorio/Practica
08.htm.](http://www.um.es/bbmbi/Docencia/Practicas/Medicina/PracticasLaboratorio/Practica08.htm)
62. [http://www.um.es/bbmbi/Docencia/Practicas/Medicina/PracticasLaboratorio/Practica
08.htm.](http://www.um.es/bbmbi/Docencia/Practicas/Medicina/PracticasLaboratorio/Practica08.htm)

ANEXOS

INDICE DE IMAGENES

IMAGEN. 1. Las manchas de sangre por proyección dinámica19

IMAGEN. 2. Manchas producidas por diferentes ángulos y distancias..... 20

IMAGEN. 3. Componentes de la sangre..... 22

IMAGEN. 4. Bolsas y sobre para transportar objetos o prendas con sangre.....25

IMAGEN. 5. Recolección de derrame de sangre.....26

IMAGEN. 6. Recolección de muestra de sangre en personas.....29

IMAGEN. 7. Recolección de sangre por raspado.....30

IMAGEN. 8. Levantamiento de sangre por cortado.....31

IMAGEN. 9. Rotulado de muestras.....35

IMAGEN. 10. Coloración rosa brillante de la prueba de Kastle-Meyer positiva..... 40

IMAGEN. 11. Foto de observación de luminiscencia en escena.....46

IMAGEN. 12. Bluestar Forensic Kit.....50

IMAGEN. 13. Cristales de hemina de Teichmann.....52

IMAGEN. 14. Prueba de precipitinas en tubos capilares.....59

IMAGEN. 15. Antígenos y anticuerpos presentes en los grupos sanguíneos.....65

IMAGEN. 16. Antígenos presentes en cada grupo sanguíneo.....65

IMAGEN. 17 Antígenos comerciales para la determinación de grupo sanguíneo.....67

IMAGEN. 18. Determinación de grupo sanguíneo en placa.....68

IMAGEN. 19. Interpretación de resultados en determinación de grupos sanguíneos
en placa.....69

IMAGEN. 20. Determinación del grupo sanguíneo A , Rh negativo en placa.....69

IMAGEN. 21. Determinación de grupo sanguíneo en tubo.....70

IMAGEN. 22. Reacción Negativa (No aglutinación) observada en el Método de Lattes,
de sangre humana. Microscopio 40x.....72

IMAGEN. 23. Reacción Positiva (Aglutinación) observada en el Método de Lattes, de
sangre humana, Microscopio 40 x.....72

INDICE DE FIGURAS

FIG. 1 Reacción de la bencidina o técnica de Adler..... 37
FIG. 2. Reacción de fenolftaleína reducida o Kastle-Meyer.....39
FIG.3. Reacción de leucomalaquita verde de Hunt.....41
FIG.4. Reacción de luminol.....44
FIG.5. Reacción de la fluoresceína.....48
FIG.6. Reacción de Teichmann.....51
FIG. 7. Reacción de Takayama.....53

INDICE DE TABLAS

TABLA 1. Método 1 de la reacción de bencidina.....	37
TABLA 2. Método 2 de la reacción de bencidina.....	38
TABLA 3. Método de la reacción de KASTLE-MEYER.....	40
TABLA 4. Método 1 de la reacción de leucomalaquita verde de Hunt.....	41
TABLA 5. Método 2 de la reacción de leucomalaquita verde de Hunt.....	42
TABLA 6. Método 1 de la reacción de Luminol.....	45
TABLA 7. Método 2 de la reacción de Luminol.....	45
TABLA 8. Preparación de fluoresceína con etanol.....	49
TABLA 9. Preparación de fluoresceína con agua destilada.....	49
TABLA 10. Diferencias de concentraciones en los componentes de la sangre humana y animal.....	55
TABLA 11. Tabla que muestra los antígenos y anticuerpos para cada grupo sanguíneo.....	64