

APOYOS A LA INVESTIGACION CRIMINALISTICA

Cada una de las actividades que demanda realizar cualquiera de los once formatos que integran una averiguación previa, exige a quien la recibe rigorismo profesional, técnico y ético, ya sea Policía Judicial Especializado, Agente del MPE, peritos en toda la amplia gama de pruebas contenidas en el catálogo de investigación criminalística, psicológos, médicos, abogados, investigadores o el profesional de otras disciplinas, cuando el caso así lo demande.

Sólo como ejemplo se mencionan a continuación las labores del laboratorio de criminalística de la Subdirección de Criminalística, de la Dirección General de Servicios Periciales de la PGJDF, que atiende las especialidades de:

- | | |
|------------------|------------------------------|
| 1.- Química. | 5.- Fotografía. |
| 2.- Serología. | 6.- Patología. |
| 3.- Toxicología. | 7.- Criminalística de campo. |
| 4.- Balística. | 8.- Genética forense. |

Laboratorio de criminalística

La labor primordial del laboratorio de criminalística consiste en auxiliar técnicamente al Ministerio Público, la Policía Judicial y en general al órgano jurisdiccional, todo esto con la finalidad que éste llegue a conocer la verdad de los hechos.

Al tener conocimiento de que se ha cometido un presunto hecho delictuoso, deben acudir al lugar de los mismos, el Ministerio Público en cumplimiento del mandato constitucional de investigar los delitos, asistido de la Policía Judicial y de los peritos. Además de la labor propia de investigación corresponde al funcionario Ministerio Público, la importante labor de dar fe de todos y cada uno de los actos o hallazgos realizados en el lugar de los hechos y en general desde ese momento durante toda la indagatoria.

MINISTERIO PUBLICO ESPECIALIZADO

La Policía Judicial por su parte, tiene como función preponderante la de preservar el lugar de los hechos y realizar aquellas interrogaciones oportunas con los posibles testigos presenciales.

Ahora bien, los peritos que acuden al lugar de los hechos, que generalmente son el criminalista y el fotógrafo, tienen como labor esencial fijar el lugar de los hechos a través de los métodos de la fotografía, planimetría o descripción escrita, así como la de levantar y embalar todos aquéllos indicios que, encontrados en el lugar mismo, pueden contribuir de manera determinante en la identificación e individualización del probable responsable.

Los dictámenes periciales normalmente se emiten a petición del Ministerio Público, de la Policía Judicial, unidad administrativa de la Procuraduría y eventualmente a solicitud de la Procuraduría General de la República o del interior de la República.

El laboratorio de criminalística se encuentra adscrito la Subdirección de Criminalística, dentro de la Dirección General de Servicios Periciales de la PGJDF.

A través del laboratorio, se pretende fijar el lugar de los hechos, recolectar y embalar los indicios y así cumplir con los dos fines u objetos de la criminalística:

- Inmediato, consistente en identificar al autor del delito, y
- Mediato, referente a la reconstrucción del lugar de los hechos.

A fin de desempeñar mejor su labor en la procuración de justicia existen desconcentradas doce zonas regionales de la PGJDF:

- | | |
|------------------------|---------------------------|
| 1.- Alvaro Obregón. | 7.- Iztacalco. |
| 2.- Azcapotzalco. | 8.- Iztapalapa. |
| 3.- Benito Juárez. | 9.- Miguel Hidalgo. |
| 4.- Coyoacán. | 10.- Tlalpan. |
| 5.- Cuauhtémoc. | 11.- Venustiano Carranza. |
| 6.- Gustavo A. Madero. | 12.- Sector Central. |

De las zonas regionales antes señaladas, en la 3,6 y 11, existen agencias para delitos especiales.

Como parte inicial de nuestra materia trataremos de establecer un concepto, de lo que debemos entender por Criminalística. Diremos que es la disciplina que aplica los métodos y técnicas de las ciencias naturales en el estudio de los indicios o material sensible, que se encuentran en el lugar de los hechos y que se utilizarán con fines rectificativos, identificativos y reconstructivos.

Debemos entender por material sensible o indicio, a todo objeto que se encuentre en el lugar de los hechos y que tiene además relación con el ilícito motivo de la investigación. Estos indicios debidamente valorados en el laboratorio, pueden llegar a convertirse en evidencia física, de ahí la importancia de esta labor.

A continuación trataremos de analizar cada una de las áreas que competen al laboratorio de criminalística a fin de tener una idea general de lo que en ellas se estudia:

1.- Química.

A esta sección del laboratorio llegan todas las sustancias que por alguna razón se encuentran inmiscuidas en un ilícito. De igual manera llegan todos los residuos producto de la deflagración de la pólvora en disparos de armas de fuego. Al respecto, y a fin de analizar estos residuos, existen dos técnicas con características y finalidades diferentes: Técnica de Harrison y técnica de Walker.

En este tipo de acontecimientos resulta de gran importancia la preservación y el acudimiento inmediato al lugar de los hechos, pues basta una hora para que los residuos producto de una deflagración empiecen a disiparse. La técnica de Walker, a diferencia de la de Harrison, puede aplicarse hasta después de acaecidos los hechos, siempre y cuando las prendas problema se mantengan en condiciones óptimas que permitan la conservación de los nitritos y nitratos.

2.- Serología.

A ésta corresponde el estudio de las manchas tanto de sangre, semen o cualquier otro fluido biológico con la finalidad de identificarlos y de ser posible relacionarlos dentro del contexto de la investigación. Después de analizadas las manchas y determinada su naturaleza, cuando la situación así lo requiera puede mandarse parte de las muestras a la sección de Genética Forense a fin de lograr una mejor individualización.

3.- Toxicología.

En la sección de Toxicología se analizan todas aquellas substancias que pudieron causar envenenamiento en un hecho determinado. De igual manera llegan para su estudio las que son consideradas por la ley como psicotrópicas y estupefacientes, indicios que pasarán previamente al Departamento de Química y después a los de Física para confirmación de los datos de orientación sacados en el Departamento anterior.

4.- Balística.

A este Departamento se van todos los casquillos, proyectiles y armas inmiscuidos en un incidente por disparo de arma de fuego.

5.- Fotografía.

Como su nombre lo indica aquí corresponde el análisis y revelado de todas las placas del lugar de los hechos incluyendo aquellos determinados indicios auspiciados bajo la fe ministerial.

6.- Patología.

Estudia las muestras de pelos y tejidos orgánicos encontrados en el lugar de los hechos.

7.- Criminalística de Campo.

Son todas las huellas que haya dejado el presunto participante y responsable del hecho delictuoso.

8.- Genética Forense.

Este Departamento es de nueva creación dentro de la PGJDF, y tiene como finalidad el estudio de las muestras que, no obstante haber pasado por el Departamento de Serología, requieren un análisis más minucioso desde el punto de vista de ADN, o HLA, para lograr el grado máximo de identificación e individualización.

Técnicas relacionadas con disparo de arma de fuego.

De entre todos los objetos utilizados para la comisión de delitos violentos, el arma de fuego sin duda ocupa un lugar significativo. Esto obliga a los encargados de la investigación de la comisión de los ilícitos disparar las preguntas que en incidentes de esta naturaleza surgen, como son: ¿Quién disparó el arma de fuego? ¿A qué distancia se hizo el disparo?

Para contestar estas interrogantes la criminalística se ha valido de ciertos principios químicos y físicos, para establecer técnicas adecuadas en la localización de substancias que produce la misma deflagración. Al hacer un disparo con arma de fuego ocurre una serie de dispersiones de residuos químicos principalmente en dos direcciones con referencia al arma en sí; existe un cono posterior formado en la parte del gatillo y recámara cuyas substancias que lo componen son principalmente bario, plomo y antimonio, provenientes del fulminante y de la ojiva del cartucho. Existe también un cono anterior que inicia en la parte final del cañón y se expande hasta en un metro en dirección frontal, los residuos que en éste se encuentran, son principalmente nitritos y nitratos producto de la deflagración misma de la pólvora.

En un principio los investigadores de incidentes con disparo de arma de fuego, se conformaban con oler las manos de los presuntos responsables del disparo. No existía una técnica adecuada por lo que se bastaban con el uso de sus sentidos.

Hacia 1913, al Dr. Iturrioz Y Front de La Habana, Cuba, le tocó investigar la muerte del Jefe de la Policía quien tenía un impacto de bala en la casaca y era importante determinar la distancia en la que le habían proferido el disparo. Buscando la forma de detectar la presencia de nitritos y nitratos encontró la

técnica de Goodman a base de ácido sulfúrico y difenilamina y ante la necesidad de extraerlos de la ropa a una superficie más óptima para su análisis pensó en la utilización de parafina.

El señor José A. Fernández Benítez, en la misma Habana pero ya en 1922, leyendo el informe de su colega decide aplicarla también a las manos.

Algunos años después, en 1931, Teodoro González Miranda, Jefe de la Policía Metropolitana de México, solicita y obtiene la revista de La Habana en donde se habían publicado las pruebas de la parafina y la introduce a México, de donde se difunde hacia Estados Unidos y de ahí a todo el mundo.

Esta técnica con el transcurso del tiempo fue mostrando deficiencias, debido a los cada vez más sofisticados mecanismos de las armas que impiden una maculación ostensible. Además de la facilidad con que se encuentran en el medio ambiente las substancias a detectar.

En 1964 la Interpol, durante la celebración del Primer Seminario sobre Aspectos Científicos del Trabajo Policiaco, determinó que la tradicional prueba de parafina no tenía ningún valor ni como evidencia para llevarla a las Cortes, ni como segura indicación para el oficial de policía.

Desde 1959 los señores Harrison y Gilroy habían hecho un reporte describiendo un método nuevo encaminado a descubrir bario y plomo mediante la aplicación de un reactivo a base de radizonato de sodio. Con esto se dio origen al surgimiento de la técnica denominada como sus progenitores, Harrison y Gilroy o de Radizonato de Sodio, con posterioridad se suprimió el nombre de Gilroy pues su aportación en cuanto a detectar el antimonio no resultó comprobable.

Continuando con la historia, en 1964 se empieza a utilizar el análisis para la activación de electrones, donde se podían detectar todos los elementos a través de la utilización de un reactor nuclear, el cual al introducirle la substancia a analizar, se producen una serie de rayos gamma plenamente identificables.

Ya para 1972, se empezó a utilizar la espectrofotometría de absorción atómica para determinar la presencia de bario, antimonio y plomo, su grado de efectividad es elevado y no tan caro como el de activación de electrones, sin embargo el costo de los aparatos utilizados es alto. Esta técnica tiene un grado de confiabilidad del 95%.

Técnica de Harrison.

Cuando se dispara un arma de fuego, la mano de quien lo hace puede resultar maculada por gases y derivados de nitratos provenientes de la deflagración de la pólvora, bario, antimonio y plomo.

Con base en el hecho ya señalado, la prueba de Harrison tiene como finalidad identificar el bario y plomo que pudieran haber maculado la mano de quien disparó. Tal identificación es posible en virtud de la coloración que resulta de la reacción química entre la substancia de referencia y los elementos señalados que son parte integrante de los cartuchos: Plomo del proyectil y el bario del ful-minante, es decir se trata de una técnica colorimétrica. Tiene una confiabilidad de 85%.

MINISTERIO PÚBLICO ESPECIALIZADO

- Material utilizado:
 - . Fragmentos de tela blanca de algodón, limpia y libre de apresto, de aproximadamente 2x2 cm.
 - . Goteros.
 - . Laminillas portaobjetos.
 - . Ácido clorhídrico.
 - . Radizonato de sodio.
 - . Bitartrato de sodio.
 - . Ácido tartárico.
 - . Agua destilada.
 - . Microscopio estereoscópico.
- Reactivos utilizados:
 - . Solución acuosa de ácido clorhídrico al 1%.
 - . Solución Buffer pH 2.79.
- Bitartrato de sodio 1.9 g.
- Ácido tartárico 1.5g.
- Agua destilada c.b.p. 100 ml.
- . Solución acuosa reciente de radizonato de sodio al 0.2% (Para preparar 10 ml., pesar 20 miligramos y aflorar a 10 en un matraz volumétrico). Esta solución deberá prepararse diariamente, cuidando de mantenerla protegida de la luz.
- Método utilizado:
 - . Se humedece la tela con dos gotas de solución de ácido clorhídrico al 1%.
 - . Con fragmentos de tela humedecida y diferentes, limpiar tanto la región palmar como la dorsal de cada mano, fundamentalmente las zonas anatómicas más frecuentes de maculación.
 - . Colocar los fragmentos de tela en laminillas porta objetos.
 - . En la parte de cada fragmento de tela que se utilizó para hacer la limpieza, poner dos gotas de solución buffer.
 - . Poner dos gotas de solución de radizonato de sodio al 0.2%, en cada una de las partes de tela tratadas químicamente con anterioridad.
 - . Finalmente corresponde observar macro y microscópicamente los fragmentos de tela.
- Interpretación de resultados:
 - . Si al desaparecer la coloración amarilla del radizonato de sodio se observa coloración rosa marrón, la prueba es positiva para bario.
 - . Si se observa color rojo escarlata, la prueba es positiva para plomo.
 - . Si no se observa ninguna de las coloraciones indicadas, la prueba es negativa.

Técnica de espectrofotometría de absorción atómica.

Como ha quedado plenamente señalado, esta técnica se utiliza con el fin de identificar bario, antimonio y plomo en las zonas más frecuentes de maculación producida por el disparo de arma de fuego. Está basada en el principio de la

absorción de luz de distintas longitudes de onda, las cuales son características para estos elementos en sus diferentes estados atómicos.

Es un método rápido, de fácil operación y cuya sensibilidad es comparable con la del análisis por activación de neutrones.

- Materiales utilizados:

- . Telitas de algodón de las mismas dimensiones de la técnica anterior.
- . Tubos de ensayo de 12x75 mm.
- . Cinta adhesiva.
- . Se pone sobre la superficie gelatinosa del papel fotográfico.
- . Con un lápiz de grafito se marca en el papel fotográfico el orificio dejado por el proyectil.
- . Sobre la prenda se coloca un lienzo delgado y limpio previamente humedecido en la solución de ácido acético.
- . Al lienzo humedecido se le sobrepone otro igual, pero seco.
- . Con la plancha tibia se presiona toda la superficie del lienzo seco, durante 5 o 10 minutos.
- . Finalmente, se retiran con cuidado todos y cada uno de los objetos que se colocaron sobre el papel fotográfico.

Interpretación de resultados.

La prueba se considera positiva cuando se observan en el papel fotográfico puntos de color rojizo o rosado los cuales varían en el tamaño, número y distribución, según la distancia a la que se haya hecho el disparo.

Para calcular la distancia del disparo, se realizan con el arma cuestionada y cartuchos de la misma marca que los utilizados en el caso problema, una serie de ensayos, con el propósito de recabar varios testigos o patrones que sirvan como puntos de referencia al compararlos con el caso problema.

En términos generales podríamos decir que las marcas de nitritos se producen en disparos de distancia máxima de un metro o menos según las circunstancias de dispersión ambiental.

La prueba sale negativa en disparo con apoyo, toda vez que los residuos de nitritos se introducen en el orificio de entrada del proyectil.

Todo dictamen pericial debe contener:

- Introducción, en el cual se expresará el problema y la descripción de la muestra.
- Técnica y método utilizado.
- Resultados.
- Conclusiones.

MINISTERIO PUBLICO ESPECIALIZADO

En el caso de las técnicas de Harrison y Walker aplicadas por el químico, éste otorgará sólo resultados pero no emitirá conclusiones, pues corresponde al Ministerio Público darle la interpretación debida dentro del contexto de la investigación.

Indicios que se llegan a encontrar en el lugar de los hechos, y que son susceptibles de analizarse en el laboratorio:

Sangre.

La presencia de sangre o manchas de sangre son de lo más común en los lugares donde se han cometido delitos de lesiones externas o expuestas.

El estudio de las manchas de sangre plantea en principio cuatro interrogantes:

- 1.- ¿La mancha encontrada es de sangre? -En caso de ser sangre-.
- 2.- ¿Esa sangre es humana?
- 3.- ¿A qué grupo sanguíneo pertenece?
- 4.- ¿De qué persona es?

La primera interrogante es de aparente fácil resolución a través de una reacción de orientación. En cuanto a la segunda es determinable a través de la utilización de suero antihumano para establecer si tal o cual mancha de sangre es humana o no. La tercera a través de la aplicación de antígenos y la cuarta implica un procedimiento más especializado pues se logra sólo con el estudio genético correspondiente.

La sangre es un tejido líquido que circula a través del cuerpo y se encarga de transportar oxígeno a todo el organismo y de recoger el bióxido de carbono producido por los tejidos, para transportarlo a los pulmones y cambiarlo nuevamente por oxígeno. Constituye aproximadamente el 8 % del peso corporal, se encuentra formada por una fracción sólida y una líquida.

La parte sólida de la sangre contiene:

- Eritrocitos o glóbulos rojos (4.5 millones x milímetro cúbico).
- Leucocitos o glóbulos blancos (5,000 a 10,000 x milímetro cúbico).
- Plaquetas o trombocitos (200 a 400 por milímetro cúbico).

Los glóbulos rojos son células sin núcleo, contienen hemoglobina. Para efectos de criminalística, en la membrana de este glóbulo se encuentran los datos o elementos que nos permiten determinar el grupo sanguíneo, toda vez que en las crestas de la membrana o estroma se encuentran los antígenos del sistema A-B-O, entre la cresta y el valle se encuentran los elementos determinantes del RH. También ahí se encuentran las proteínas para determinar si la sangre es humana o no y las enzimas a su vez demuestran o indican si es sangre o no.

Los leucocitos por su parte son células de defensa, éstas a diferencia de las anteriores sí tienen núcleo, por lo que en ellos es posible encontrar cromosomas y por ende información genética mediante el DNA, que nos permite de una manera casi absoluta identificar e individualizar a una persona.

Las plaquetas son aquéllas que originan o permiten el proceso de coagulación de la sangre viva.

La parte líquida de la sangre la constituye el plasma que no es otra cosa más que el vehículo líquido de los otros elementos ya señalados. El plasma es un fibrinógeno o productor de fibrina y que produce la coagulación.

La forma correcta de recolectar y embalar las muestras de sangre obedece a la forma en que ésta se encuentre.

- Sangre líquida.

En este caso deberá tomarse con ayuda de un gotero o pipeta y se deposita dentro de un tubo de ensayo o frasco perfectamente limpio y seco, luego añadir por cada 5 cm. cúbicos de sangre 1 cm. cúbico de suero fisiológico o solución salina (8.5 gr. de sal disueltos en un litro de agua).

- En coágulos.

En este supuesto se puede tomar con un palillo de madera e introducir en cualquiera de los recipientes ya señalados con la solución salina respectiva.

- Manchas de sangre seca.

Estas se levantan con pedacitos de tela de aproximadamente 2x2 cm., humedecida con solución salina y se va frotando o limpiando para ir extrayendo la mancha e impregnándola en la tela, con una telita similar se talla en la misma superficie pero sin sangre, que habrá de servirnos como testigo.

- Mancha sobre tela.

Cuando éste sea el supuesto, se procurará recortar en cuadros de aproximadamente 2x2 cm., recortando otro de un lugar no manchado para que sirva de testigo.

- Sangre sobre tierra o arena.

Para recolectar esta sangre deberá tomarse la parte completa con una palita o espátula y se deposita en una caja evitando que ésta se bata. Por separado debe llevarse una muestra de la tierra donde se encontró la sangre.

- Sangre impregnada en cabellos.

Esta se recolecta con pinzas y se coloca en un sobre pequeño o bien en bolsas de plástico para enviarlas a laboratorio.

- Manchas de sangre sobre el cuerpo de la víctima cuando se sospecha que no sea de ésta.

Estas se toman de la misma forma que las manchas de sangre seca, pero además debe tomarse una muestra de la sangre de la víctima para efectos de comparación.

Todas las muestras recolectadas deberán llevar etiquetas que contengan el número de averiguación, fecha y hora en que se levantó, lugar en que se recolectó, naturaleza presunta del indicio y el nombre del investigador que realizó el levantamiento, así como el embalaje de la muestra.

Metodología criminalística en hematología forense.

Reacciones de orientación.

- Reacción de bencidina o de Adler.
- Reacción de fenolftaleína reducida.
- Reacción de leucomalaquita verde.
- Técnicas espectroscópicas.

Técnicas de confirmación.

- Cristales de hermina o de Teichman.
- Cristales de hemecromógeno o Takayama.

Técnicas de confirmación.

- Reacción de las precipitinas en capilar.

Determinación del grupo sanguíneo.

- En sangre fresca.
- En sangre seca.

La hematología forense en el estudio de la sangre utiliza también un método científico para comprobar sus hipótesis a través de la experimentación. Así tenemos que las técnicas de orientación tendrán como finalidad el de guiarnos en un análisis preliminar si la materia o sustancia de estudio es sangre o no, para que con posterioridad y atendiendo a los resultados obtenidos podamos recurrir a las técnicas de confirmación.

En el Distrito Federal de las técnicas de orientación antes señaladas se usa con más frecuencia la reacción de fenolftaleína reducida. Esta técnica de reacción de fenolftaleína, se basa en el mismo principio químico de la reacción de bencidina con algunas particularidades.

Las peroxidásas sanguíneas son catalasas, que poseen actividad enzimática en las reacciones de oxidación, ya que tienen la propiedad de descomponer el

peróxido de hidrógeno u otros peróxidos orgánicos, produciendo liberación de radicales de oxhidrilo. Esta capacidad enzimática se encuentra en el grupo hem de la hemoglobina.

Para realizar la reacción de fenolftaleína reducida, como su nombre lo indica ésta debe ser previamente reducida a fenolftaleína incolora y este reactivo debe ser guardado en refrigeración y en frasco ámbar.

A diferencia de la reacción de bendicina la de fenolftaleína se trabaja en un medio alcalino y no ácido como la primera. Debe efectuarse además un calentamiento previo a 100° C., durante un minuto.

Preparación del reactivo.

Solución de fenolftaleína.

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

Solución de trabajo.

- Diluir la solución madre en etanol en la proporción de 1.5; la que también deberá refrigerarse en tanto no se use.

Solución de agua oxigenada al 3%.

El procedimiento es el siguiente: Se humedece un hisopo con solución salina, frotando la muestra problema y pasarlo a un tubo de ensayo con 2 ml., de la misma solución, calentar un minuto a 100° C., añadir unas gotas de reactivo, esperar unos segundos y agregar agua oxigenada. En caso positivo se obtendrá una coloración rosa brillante.

La técnica de reacción de leucomalaquita verde se basa al igual que las ya señaladas en el principio de la reducción y oxidación ocasionada por la actividad enzimática de la sangre.

Las técnicas espectroscópicas por su parte, permiten poner de manifiesto mediante espectros de absorción, la presencia de hemoglobina y o alguno de sus derivados, en manchas de sangre.

La hemoglobina diluída en agua (oxihemoglobina) tiene dos bandas de absorción en la zona del espectro visible cuyos máximos se encuentran a 575 y 540 nm., respectivamente.

En criminalística no es suficiente con obtener el espectro de la oxihemoglobina, sino que es necesario someter la muestra a una marcha espectral. En el Distrito Federal se utiliza el procedimiento siguiente:

- Se impregna un pequeño trozo de tela de 5 x 5 mm., limpio y sin apresto, de color blanco con la muestra problema. Se coloca la muestra obtenida en un tubo de ensayo y se añaden 5 ml., de agua destilada, dejándola reposar durante 10 min., para lograr una eficiente extracción; pasado este tiempo, se filtra.
- Se efectúa el barrido espectral en la zona del espectro visible; en caso de ser positiva, se obtendrán tres bandas de absorción: dos finas de 575 y 540 nm., y una banda ancha a 412. Este espectro corresponde a la oxihemoglobina.
- Concluido esto, se realiza una nueva extracción de la muestra mediante el procedimiento ya señalado, pero utilizando en lugar de agua destilada, 5 ml., de una solución de ferricianuro de potasio al 0.5 %. Al realizar el barrido espectral en la región visible, se obtendrá una banda de 630 nm., que corresponderá a la metahemoglobina.
- Sobre la misma celda de muestra, añadir unos gránulos de cianuro de potasio; al efectuar el registro espectroscópico, deberá aparecer la banda de la longitud de onda correspondiente a 630 nm., debida a la formación decianometahemoglobina.

Esta técnica resulta de gran utilidad para detectar posibles intoxicaciones por monóxido de carbono, el cual al unirse con la hemoglobina se forma la carboxihemoglobina la cual es plenamente identificable en una longitud de banda determinada.

Una vez orientados en nuestro análisis y determinado que la substancia problema es sangre, corresponde entonces dar paso a las técnicas de confirmación: cristales de Hemina o de Teichman.

El principio químico de esta técnica se basa en el hecho de que la hemoglobina al ser tratada con ácido acético, se separa inmediatamente de las proteínas del grupo prostético. Durante la hidrolisis la globulina se desnaturaliza.

La oxidación de fierro del grupo hem se efectúa más rápidamente en medio ácido que en medio alcalino.

El reactivo utilizado se prepara de la siguiente forma:

- 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 la muestra problema en el centro de una laminilla de vidrio y se pone encima de ella un cubre objetos.
- Se desliza entre lámina y laminilla, por capilaridad, unas gotas de reactivo Teichman.

- Se calienta la laminilla lentamente y a baja temperatura hasta la evaporación.
- Se deja enfriar y se observa al microscopio. En caso positivo se observarán cristales romboides de color café oscuro.

Además de la técnica señalada, existe una más de confirmación llamada de cristales de hemerógeno o de Takayama. Esta técnica se basa en el principio químico de que tanto la forroprotoporfina como la forriprotoporfina tienen la propiedad de combinarse con otros compuestos nitrogenados por medio de la globulina. Tales compuestos incluyen otras proteínas, hidróxido de amonio, cianuro, nicotina y piridina y los productos resultantes se llaman hemocromógenos. Los cristales pueden formarse tanto en medio ácido como alcalino; sin embargo, el reactivo Takayama es de naturaleza alcalina.

El reactivo Takayama se prepara a través de una mezcla de las siguientes substancias:

- Una parte de solución saturada de glucosa.
- Una parte de solución de hidróxido de sodio al 10%.
- Una parte de piridina (PM: 79.1 D - 048).
- Dos partes de agua destilada.

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

Procedimiento.

- Se coloca una pequeña cantidad de muestra problema entre una laminilla portaobjetos y un cubreobjetos.
- Deslizar por capilaridad unas gotas del reactivo entre lámina y laminilla.
- Calentar la laminilla a baja temperatura durante 30 segundos.
- Observar al microscopio. En caso positivo se observarán cristales romboides de color rosa o alrededor de la muestra.

Una vez orientada y confirmada la hipótesis de que nuestra muestra problema es sangre, corresponde ahora despejar la siguiente interrogante: ¿Se trata de sangre humana?

La técnica de elección para determinar si una mancha de sangre es de origen humano, es la reacción de las precipitinias descubierta en 1900 por Uhlenhuth. Esta técnica se fundamenta en el principio de que las moléculas del anticuerpo (inmunoglobulina) reaccionan con el antígeno (proteína soluble) para formar un precipitado, fácilmente visible bajo condiciones de luz apropiadas y las concentraciones equivalentes de antígeno y de anticuerpo.

Reactivos.

- Antisuero humano precipitante (obtenido de la sangre de un conejo que previamente y durante un lapso de seis semanas le fue inyectada sangre humana).
- Solución salina fisiológica.

El procedimiento a seguir consiste, en cortar un pequeño fragmento de la mancha y extraer en un tubo de ensayo de 12 x 75 mm., con unas gotas de solución salina fisiológica; el tiempo requerido dependerá de la naturaleza de la mancha.

Dos gotas del extracto diluido se colocan en un tubo capilar (de tal forma que el líquido humedeza la pared del tubo por lo cual es preferible hacer esto con el capilar inclinado). Una cantidad igual de antisuero se absorbe en el mismo capilar de manera que quede abajo del extracto de la muestra. El tubo se coloca perpendicularmente sobre un soporte. La aparición de un anillo de precipitación en la interfase de los dos líquidos indica reacción positiva.

El resultado se considerará positivo si aparece la precipitación antes de 20 minutos, después de ese tiempo el resultado deja de ser confiable.

Continuando en una secuencia lógica, una vez orientada, confirmada que nuestra muestra es sangre y que además se trata de sangre humana, corresponde determinar a qué grupo sanguíneo pertenece. La determinación del grupo sanguíneo en la práctica forense, aporta muchas veces a los Tribunales elementos de prueba importantes en la identificación de sangre y distinción entre la de la víctima y el victimario.

En 1901, Landsteiner descubrió la existencia del sistema A-B-O, al observar que la sangre humana tenía características individuales que se manifestaban por reacciones de aglutinación, pues encontró que los eritrocitos o glóbulos rojos de una persona eran aglutinados o agrupados por el suero sanguíneo de solamente algunos otros individuos. Este hallazgo dio origen al descubrimiento de otros grupos como el MN, el P, el sistema RH y muchos más.

En el grupo sanguíneo A- B-O, la presencia o ausencia de eritrocitos de los antígenos del grupo sanguíneo A y B, determina los cuatro grupos del sistema, por lo tanto podemos encontrar a individuos pertenecientes a los siguientes grupos: A, B, AB, y O clasificación en la que el O denota la ausencia de A y de B.

Un hecho sobresaliente es la presencia regular de anticuerpos anti-A y anti-B en el suero de los individuos cuyos eritrocitos no tienen el correspondiente antígeno y aglutinógeno. El aglutinógeno de los eritrocitos y los anticuerpos contenidos en el suero son los siguientes:

- En el grupo O, existen anticuerpos en suero de Anti-A y Anti-B.
- En el grupo A, existen de anti-B. En el grupo B, existen de anti-A.
- En el grupo AB, no existen, solo del subgrupo Anti-A1.

Determinación de grupo sanguíneo en sangre seca.

En las manchas de sangre seca, las células se han roto y por lo tanto las pruebas de aglutinación directa no son factibles, sin embargo los antígenos del sistema A-B-O, no se desnaturalizan tan rápidamente por la sequedad y en este sistema sobreviven durante algún tiempo y conservan la capacidad de combinarse con anticuerpos específicos.

La técnica utilizada para estos casos es la de absorción-elución, la cual tiene como fundamento un primer proceso de absorción específica entre la mancha problema y su anticuerpo homólogo; después de que la absorción es completa, el excedente de anticuerpo se elimina por medio de lavados con solución salina fría. El complejo antígeno anticuerpo se disocia por calentamiento, generalmente a 56° C, el anticuerpo eluido se pone en contacto con eritrocitos lavados de propiedades antigénicas conocidas; finalmente la aglutinación indica la presencia de un antígeno de la misma especificidad que el de las células usadas como testigo conocido.

Material empleado.

- Seros hemoclasificadores anti-A, anti-B, anti-AB y lectina anti-H.
- Metanol.
- Na₂HPO₄.
- KH₂PO₄.
- NaCl.
- Tubos de ensayo de 13 x 10.
- Pipetas Pasteur.
- Bulbos de goma.
- Tijeras.
- Aplicadores de madera.
- Guantes desechables.
- Tela estéril y sin apresto, de algodón.
- Gradillas para tubos de ensayo de 13 x 100.
- Refrigerador.
- Centrífuga.
- Baño maría a temperatura constante.
- Horno.

Reactivos.

- Buffer salino:
 - . Solución 1/15/15 M de Na₂HPO₄ (9.47 gr/lt).
 - . Solución 1l/15 M de KH₂PO₄ (9.08gr./lt.J).
- Buffer final:
 - . A 72 ml. de la solución primera, añadir 50 ml. de la solución segunda, y 85 gr., de cloruro de sodio.

Preparación de los antisueros.

Los sueros anti-A y anti-B, se diluyen de la siguiente manera: A 1.0 ml., de antisuero, se añaden 10 ml., de solución buffer final. Los sueros anti-AB y anti-H se utilizan sin diluir.

El procedimiento a seguir es el siguiente:

- Se cortan cuatro fragmentos de tela impregnadas de sangre problema, que medirán 3mm., cuadrados, y se coloca cada recorte en los tubos necesarios.
- Los tubos se ponen en una misma columna de una gradilla, columna que se marcará como problema.
- En la forma antes descrita se prepara otra serie de tubos en cuyo interior se colocarán fragmentos de tela con sangre de grupo conocido: A, B, AB y O, marcándose tal columna como testigo.
- Igualmente se colocará 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 signada como control.
- Se fijan las manchas de sangre impregnadas en la tela cubriendolas con metanol cuando menos durante 15 min. Despues de ese tiempo se elimina totalmente.
- Se agregan a cada tubo de la hilera anti-A, dos gotas de suero anti-A, a las de la hilera anti-B, suero anti-B; a los de la hilera anti-AB, suero anti-AB; y a los de la hilera anti-H, lectina anti-H.
- Dejar en refrigeración durante toda la noche a 4° C.
- Lavar con solución salina fría 6 veces o hasta obtener una solución clara e incolora.
- Añadir a cada tubo dos gotas de solución salina a temperatura ambiente.
- Colocar la gradilla en baño maría durante 10 ó 15 minutos.
- Sacar cuidadosamente los trozos de tela con un aplicador de madera, diferente para cada tubo.
- Agregar una gota de glóbulos lavados al 2 %:
 - . Del grupo A, a los tubos de la hilera A
 - . Del grupo B, a los tubos de la hilera B
 - . Del grupo AB, a los tubos de la hilera AB
 - . Del grupo O, a los tubos de la hilera H
- Centrifugar durante treinta segundos a 3,400 rev/min.
- Observar si existe o no aglutinación.

Interpretación de los resultados.

- Si hay aglutinación en el tubo problema marcado como anti-A, el grupo corresponderá al A.
- Si hay aglutinación en el tubo problema marcado como anti-B, el grupo corresponderá al B.
- Si hay aglutinación en los tubos problemas marcados como anti-A, anti B y anti-AB, pero no el de la hilera signada como anti-H, el grupo será AB.
- Si existe aglutinación en el tubo problema de la hilera anti-H, y simultáneamente en el problema de la hilera signada como anti-A, el grupo en cuestión corresponderá al A2.
- Si no hay aglutinación en los tubos problemas de las tres primeras hileras, pero sí en la hilera marcada como anti-H, el grupo sanguíneo corresponderá al O.

Exclusión de la paternidad.

Con cierta frecuencia encontramos problemas en cuanto a determinar si un niño es o no hijo de determinada pareja o persona en lo particular. Es importante señalar que no es posible determinar con absoluta certeza la paternidad de determinada persona, pero en cambio sí se pueden dar resultados que aporten datos significativos.

Los estudios sobre la exclusión de paternidad se basan en los antígenos del grupo sanguíneo los cuales se heredan de acuerdo a las Leyes de la Herencia Mendeliana. Así, los resultados de la exclusión de paternidad, son ciertos cuando cumplen el siguiente postulado:

Un gene de grupo no puede aparecer en un niño, a menos que esté presente en el padre, en la madre o en ambos progenitores.

Otra regla reza que si uno u otro de los padres es homocigoto a un gene particular de grupo sanguíneo, su producto deberá aparecer en la sangre del hijo.

Así por ejemplo, un padre CC, no podrá tener un hijo CC, sino que forzosamente deberá tener un antígeno C.

Semen.

El primer antecedente que se tiene de la existencia de las células espermáticas, data del siglo XVII, cuando Luis de Hamm, tuvo la idea de colocar al microscopio una gota de semen, en la que pudo observar a una multitud de espermatozoides. Comunicó su descubrimiento a su maestro Anton Van Leeuwenhok, quien se encargaría de estudiarlos de una manera sistemática.

El francés Albert Florence descubrió una de las primeras técnicas para reconocer las huellas de líquido seminal, a través de un tratamiento de éste con una

MINISTERIO PUBLICO ESPECIALIZADO

concentración de yodo alcalino, produciéndose cristales rómbicos. Al ser descubiertos los rayos ultravioleta por Kirchhoff y Bunsen, se observó que las manchas de semen adquirían bajo esta radiación, una fluorescencia azulada. En 1953, Fishman y Lerner dan a conocer su método para estimar fosfatasa ácida de origen prostático.

En este campo de la serología, el estudio del DNA ofreció nuevas expectativas, ya que una vez identificada una muestra de líquido seminal, es posible individualizarla a través de su patrón genético. El plasma seminal constituye un medio líquido y la fuente nutritiva de los espermatozoides.

El semen total es un líquido muy viscoso y opalescente, de color blanco grisáceo, con una densidad de 1028. Su pH varía entre 7.35 y 7.8, sus amortiguadores, fosfato y bicarbonato, contribuyen a proteger los espermatozoides contra el PH vaginal. El volumen promedio normal por eyaculación es de 2.5 a 3.5 ml., disminuyendo después de varias eyaculaciones. Se coagula poco después de ser expedido, pero se licúa en minutos, alcanzando entonces las células espermáticas su mayor movilidad. Contiene hormonas, fructuosa, fosfatasa ácida y alcalina, espermina, colina, ergotioneína, ácido cítrico, lípidos, proteínas, hiluronidasa prostglandina, ribosa, inositol, sorbitol, flavinas, aminas, albúmina, alfa y beta globulinas, así como una gamma globulina. Lectina, ácidos grasos, pusferil culina, zinc, calcio y antígeno soluble de grupo sanguíneo. Usualmente se llegan a contenidos de 70 a 150 millones por mililitro.

Recolección y embalaje de las muestras.

Para la recolección de muestras de semen se debe contar con:

- Tubos de ensayo e 15 cm., de largo por 1 cm., de ancho, que contendrán en su interior dos hisopos hechos en aplicadores de madera de 15 cm., de longitud y que hayan sido previamente esterilizados.
- Laminillas porta objetos.
- Ampolletas de solución salina estéril.

El procedimiento consiste en tomar las muestras de la cavidad vaginal y/o anal, utilizando los hisopos contenidos en los tubos de ensayo, procurando tomarlas lo más profundo posible. Deben tomarse dos muestras como mínimo.

- Al extraer el hisopo de la cavidad estudiada, se hará de inmediato un frotis sobre una laminilla porta objetos, teniendo especial cuidado de no pasar más de una vez el algodón del hisopo, sobre la misma superficie. A continuación se fijará el frotis aplicando la flama de un encendedor por debajo de la laminilla; el mismo aplicador se regresa a su tubo y se le agrega solución salina para conservarlo.
- Se tomará una segunda muestra con el hisopo humedecido con unas gotas de solución salina, misma que se trasladará al tubo signado

como dos, destinándolo a la búsqueda de fosfatasa ácida y su cuantificación.

- La tercera muestra tomada en idénticas condiciones, se destinará para futuras aclaraciones o confrontas.

En cadáveres se tomarán de igual manera las muestras pero procurando que sea lo más rápido posible para evitar la putrefacción de las mismas.

Las prendas de ropa interior, sábanas, pañuelos desechables o cualquier otro objeto que se considere relacionado con el hecho, se embalará en bolsas de plástico con una etiqueta, donde además de los datos usuales se anotará el lugar donde se recolectó, previa fijación por medio de la fotografía y fe ministerial.

Técnicas de orientación.

- Flourescencia a la luz ultravioleta (localización topográfica): El líquido espermático contiene flavinas en alta concentración y son las responsables de impartir fluorescencia blanco verdosa del semen, cuando las manchas de éste son observadas a la luz ultravioleta; por lo tanto este procedimiento es de gran utilidad para la localización topográfica de posibles huellas espermáticas. Recientemente también se usa el rayo láser para ese fin.
- Técnica de la Fosfatasa Acida: La fosfatasa ácida está presente en los géneros animal y vegetal; siendo una enzima, tiene la propiedad de hidrolizar los esteres alifáticos y aromáticos de ácido ortofosfórico.

Por lo que se refiere a los fluidos corporales humanos, se ha demostrado que en el semen la fosfatasa ácida se encuentra en concentraciones de 20 a 400 veces más que en los otros fluidos, por lo tanto, las manchas sospechosas se pueden identificar por el hallazgo de elevadas concentraciones de aquélla.

Preparación del reactivo.

Solución 1 (buffer).

- Cloruro de sodio	23.0 gr.
- Acetato de sodio 3 H ₂ O	2.0 gr.
- Ácido acético glacial	0.5 gr.
- Agua destilada solución	90.0 ml.

Solución 2

- 1 naftil fosfato de calcio	50.0 gr.
- Sulfato de dianesil tetrasonio	30.0 gr.
- Solución acuosa al 10% de lauril sulfato de sodio	1.0 ml.

MINISTERIO PUBLICO ESPECIALIZADO

Reunir las soluciones 1 y 2; filtrar y envasar en frasco ámbar que se guarda en refrigeración a 4° C. Esta solución se conserva activa durante un año.

Procedimiento.

La mancha problema o el hisopo con el cual se tomó la muestra, se colocan entre las hojas del papel filtro; lo mismo se hace con material igual no manchado para prueba en blanco y con otro que esté maculado con semen como testigo.

Se colocan sobre una lámina de vidrio en la que previamente se habrá anotado: Testigo negativo; muestra problema y testigo positivo; inmediatamente después se agregan aproximadamente 10 gotas de reactivo a cada una de las muestras, con una pipeta o gotero.

La aparición de una coloración violeta intensa en la muestra problema, dentro de un tiempo no mayor a 5 minutos, indicará la presencia de fosfatasa ácida y la muy probable presencia de semen; en el testigo positivo siempre deberá observarse la misma intensidad de color antes descrita, no así en el testigo negativo que deberá permanecer blanco.

Técnicas de confirmación.

La certeza de que una muestra corresponde a semen, se da sin lugar a dudas con el hallazgo de los espermatozoides en el espécimen analizado.

El líquido espermático contiene usualmente como ya se señaló anteriormente de 70 a 150 millones por mililitro. El espermatozoide humano está formado por: Una cabeza de forma oval que mide 4.6 x 2.6 x 1.5 micras; una pieza intermedia que contiene las mitocondrias y una cola formada por nueve filamentos que rodean a otros dos centrales. En los animales la cabeza tiene distinta forma y dimensiones.

Toxicología.

La Toxicología inició formando parte de la medicina legal hasta que, debido a su importancia, se independizó de la misma. Corresponde a Mateo Buenaventura Orfila, el mérito de haber reunido, organizado y sistematizado los conocimientos que sobre toxicología existían en su obra Tratado de los Venenos o Toxicología General, en 1840. Esto le valió ser llamado el padre de la toxicología.

Las sustancias venenosas son numerosas, pero el mayor problema radica en el hecho de que una vez ingeridas por el organismo éstas se metabolizan, por lo que requieren un proceso inverso de separación.

Una obra contemporánea de gran utilidad dentro del ramo de la toxicología es la denominada *ISOLATION AND IDENTIFICATION OF DRUGS* de E.G.C. Clarke.

Desde 1803, en que se empezaron a estudiar los alcaloides de una manera sistemática hasta la fecha, han surgido una serie de nombres que han contribuido de una manera notable al enriquecimiento de la toxicología, tanto en el descubrimiento de sustancias como de técnicas para detectar su presencia en sustancias. De todas las técnicas conocidas, la cromatografía constituye una de las más importantes y, por ende de las más usadas. A través de esta técnica se logran separar e identificar sustancias.

La Organización Mundial de la Salud ha emitido una definición de tóxico, señalándolo como cualquier agente químico que introducido en el organismo afecta algún proceso biológico.

Cuando se sospeche de algún envenenamiento, es útil conocer los síntomas de muerte, a fin de que el toxicólogo tenga los elementos necesarios para poder realizar con base en ellos el estudio correspondiente.

Si el presuntamente envenenado tiene amoratamiento, es muy posible que haya ingerido cianuro o gas butano. Si por el contrario el color es escarlata, puede deberse a una intoxicación por monóxido de carbono. Si presenta convulsiones puede haber ingerido algún plágicida.

Los venenos más comunes conocidos son: Cianuros, arsénico, estricnina, barbitúricos, plaguicidas (parathión, malatión, venenos para ratas, hormigas, etc).

El ácido cianhídrico y en general todos los cianuros son muy solubles en agua y su grado de toxicidad es el resultado de la hipoxia (falta de oxígeno) que produce el ion cianuro, al unirse a la sangre forma la cianometahemoglobina. Este ion puede introducirse al organismo por vía bucal, inyección, inhalación e inclusive por la piel, si el contacto con sus soluciones es muy prolongado. La dosis mortal es de 50 a 60 miligramos dependiendo las circunstancias personales.

El método de desintoxicación es con nitrito sódico de 0.3 a 0.5 gramos disueltos en 10 a 15 ml., de agua y mientras se inhala esto, debe inhalar también nitrito de amilo durante 30 segundos cada dos minutos. A continuación se ponen inyecciones intravenosas de trosulfato de sodio 12.5 gramos en 50 ml., de agua, muy lentamente, si es necesario hay que darle oxígeno.

En cualquier investigación de muerte por envenenamiento el rastreo de sustancias debe hacerse en el lugar de los hechos y en el contenido gástrico del envenenado. La muestra obtenida se alcaliniza en sosa (Na OH), se añaden unas gotas de ácido clorhídrico (H Cl), después unos cristales de cloruro férrico. En caso positivo da una coloración azul de prusia característico, para lo cual se utilizan los testigos positivos a efecto de comparación.

El otro veneno más común es el arsénico. Las muertes provocadas por este veneno producen en el cadáver un puntilleo hemorrágico. En personas vivas, los síntomas se manifiestan a través de trastornos digestivos, como vómito, diarrea, trastornos nerviosos, respiratorios, cardíacos y alteraciones cutáneas. Esta sustancia se almacena en los cabellos, uñas y se puede encontrar en la orina.

Existe una reacción para detectar arsénico y consiste en agregar a un tubo de ensayo un gramo de polvo de zinc, además de 4 mililitros de ácido sulfuroso

MINISTERIO PUBLICO ESPECIALIZADO

diluido a 1.1. y la muestra. En la tapa se coloca un papel filtro humedecido, encima de él se pone un cristal de nitrato de plata, se agita la solución. En el caso de que en la muestra exista arsénico, el cristal adquiere un color amarillo.

Metodología para la detección de sustancias.

- Reacciones de orientación con desarrollo de color.
- Microcristalográficas.
- Cromatografía en capa fina.
- Extracción de muestras.
- Espectrofotometría UV visible.
- Espectrofotometría infrarroja.
- Espectrofotometría de masas.
- Cromatografía de gases.

La cromatografía en capa fina es un sistema de separación de mezclas y de identificación. Este sistema se basa en el uso de un grupo de solventes orgánicos y un soporte para la muestra, el soporte por lo regular lo constituye una placa de silicigel u otro material absorbente sobre superficie de aluminio u otro soporte inerte como podría ser el vidrio.

Las muestras problema, se disuelven normalmente en soluciones orgánicas que serán colocadas sobre una línea base trazada en el soporte. Cuando las muestras se secan se depositan en la cámara que contiene la fase móvil, la cual también es un solvente orgánico o una mezcla de solventes, atendiendo a las sustancias que hayan de analizarse.