

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



METODO INMUNOCITOLOGICO PARA INVESTIGACIONES
QUIMICO LEGALES DE SANGRE

Tesis presentada por
LELIA REYES
en el Acto Público de su Doctoramiento

San Salvador
El Salvador, C.A.

1 9 5 5

062671

UES BIBLIOTECA CENTRAL



INVENTARIO: 10122860

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

Dr. ROMEO FORTIN MAGAÑA

SECRETARIO

Dr. José Enrique Córdova

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANO

Dr. VICTOR ORTIZ

SECRETARIO

Dr. JOSE MATEC TEJADA

304125
R1514
1955
FAC 99

J U R A D O S:

PRIMER EXAMEN DE DOCTORAMIENTO PRIVADO:

Dr. Víctor Ortíz
Dr. Pedro Antonio Angel
Dra. Mercedes A. Martínez

SEGUNDO EXAMEN DE DOCTORAMIENTO PRIVADO:

Dr. José Castro Sigüenza
Dr. Miguel Angel Amaya
Dr. Carlos Mata Gavidia

DOCTORAMIENTO PUBLICO:

Dr. Raúl Montoya
Dr. Juan Ramiro Díaz
Dra. Mercedes A. Martínez

DEDICATORIA

Con todo mi cariño:
a mi abuela Jacoba Reyes (in memoriam)

A mis padres:

Andrés Reyes y
Pastora de Reyes

A mis hermanos:

Clarisa
Carlos y
Javier

Con agradecimiento:

al Dr. Juan Ramiro Díaz y
al Laboratorio de Inyectables
del Hospital Rosales.

pítulos relativos al análisis bioquímico de la sangre. Como puede verse es un químico el pionero, y a nosotros en consecuencia nos corresponde velar por el desarrollo de ese legado científico.

Urban, otro químico dice refiriéndose al punto: "es pues el químico quien determina e identifica la sustancia producto de las manchas de sangre, ya sea visible o latente".

Por otra parte, la sangre, ese líquido rojo, espeso, circulante por el sistema vascular sanguíneo, cuyo examen desde el punto de vista clínico es tan interesante, tiene una importancia extraordinaria en Medicina Legal.

Los datos suministrados por el análisis de las manchas de sangre en los laboratorios de Medicina Legal Judicial, como les llamaban en el siglo pasado los tratadistas franceses o de Química Legal como se expresaban más tarde, han terminado por constituir la fuente de la Hematología Forense.

Como auxiliar de la Medicina Legal, adquiere un campo muy extenso; basta meditar un momento sobre las situaciones que la vida presenta a diario para establecer la enorme importancia. Por ejemplo un hombre ataca a otro para matar, golpear o herir; por las heridas inferidas a la víctima, brota en menor o mayor cantidad la sangre, manchando su ropa y cayendo al suelo en forma de gotas durante el recorrido hecho por el ofendido o al ser transportado su cadáver. Puede manchar también la indumentaria del agresor, sus manos, dedos y otra parte cualquiera de su cuerpo, y en ocasiones queda también sobre el arma empleada para perpetrar el delito.

Todos esos objetos que tienen relación con el crimen son recogidos y conservados cuidadosamente; sin duda alguna, las máculas sospechosas, las impresiones sangrientas descubiertas en ellos deben ser sometidas en el Laboratorio Químico Legal a un minucioso análisis --

químico o exámenes microscópicos, etc. Estos exámenes son tan importantes en el proceso para establecer científicamente el cuerpo del delito, que con suma frecuencia el Juez aguarda el dictamen pericial correspondiente, con la misma impaciencia del clínico en espera del establecimiento del cuadro hemático para fundamentar el diagnóstico. Por esta razón, en la investigación de los "delitos contra la vida y la Integridad Personal", comprendiéndose entre ellos el homicidio -- simple o calificado, el aborto, las lesiones corporales y en la investigación de los delitos contra la honestidad, el examen de los -- rastros sanguíolentos ocupa un lugar preferente en las investigaciones y es considerado como uno de los datos más importantes y decisivos, en relación con el hecho investigado. El dictamen de un químico al respecto es, pericial y por su valor científico, irrefutable.

Los tres grandes grupos naturales: animales, vegetales y minerales, no sólo maculan, sino que pueden producir manchas semejantes a la sangre, sin embargo con los adelantos de la ciencia, y con la ayuda del Laboratorio la diferenciación puede hacerse con suma seguridad y demostrarse ampliamente.

Las técnicas científicas que han hecho formidable la investigación de los rastros sanguíolentos son modernísimas; pero la noción de su enorme valor y trascendencia para el esclarecimiento de los hechos criminales, es muy antigua.

CAPITULO II

GENERALIDADES DE LA SANGRE

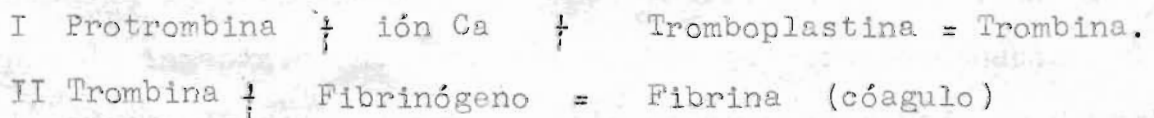
Entre los tejidos de células separadas por sustancias fundamentalmente líquidas se destaca la sangre, quizá el más interesante de nuestros tejidos. Está constituido por una sustancia intercelular líquida, el plasma, en la que están sumergidos los elementos anatómicos

que se denominan glóbulos. Fisiológicamente, la sangre es en los animales superiores, el gran medio de unión entre los elementos de los tejidos colocados profundamente, y el medio externo.

Si se extrae de sus vasos, la sangre se coagula. La coagulación se inicia unos minutos después de que ha salido. Comienza por cuajar en masa gelatinosa que va poco a poco retrayéndose, escurriendo un líquido de modo que en el término de 6, 12, 30 horas, la masa sanguínea, se ha separado en una parte sólida, opaca, roja, el cóagulo, y una parte líquida el suero. El cóagulo está esencialmente constituido por un retículo elástico, filamentososo, que engloba en sus mallas los elementos figurados de la sangre. Este retículo está formado por la fibrina. En la parte superior del cóagulo puede presentarse un estrato de color blanquecino, debido a la presencia de numerosos leucocitos al que se ha dado el nombre de costra.

La coagulación de la sangre se produce por la acción de una sustancia llamada trombina, sobre el fibrinógeno, al cual convierte en fibrina insoluble. La trombina no se encuentra en forma de tal en el plasma normal, sino en la de un precursor, la protombina. La conversión de la protombina en trombina se realiza por la acción de la tromboplastina, en presencia de iones cálcicos.

El proceso de coagulación de la sangre puede representarse en dos fases:



SUERO.

El suero es la parte líquida de la sangre desprovista de sus elementos figurados y de la fibrina que lleva en suspensión. Si batimos sangre con perlas de vidrio, obtendremos sangre desfibrinada que ca-

se reconoce por su actitud para excitar en el organismo, después de penetrar en el medio orgánico interno, la producción de anticuerpos capaces de reaccionar in vitro o in vivo, específicamente con el mismo antígeno. Si tales antígenos son aglutinados, los anticuerpos se denominan aglutininas; si son precipitados, precipitinas; y lisinas cuando dan lugar a lisis de los elementos.

A todas estas manifestaciones de tales anticuerpos es que debe el suero sus propiedades disolventes, aglutinantes, precipitantes y antitóxicas.

TEORIAS ACERCA DEL MECANISMO DE LAS REACCIONES DEL SUERO.-

Antes de entrar a detallar las precipitinas y la reacción precipitante de los sueros, de una manera general expondremos las teorías -- que han sido propuestas para explicar el mecanismo de la reacción antígeno y anticuerpo.

La teoría de Erlich (1898-1900), es la primera que intentó explicar la manera de reaccionar el antígeno con el anticuerpo. Según esta teoría se considera a la célula como a un agregado de complejos químicos elevados, provistos de grupos adheridos o cadenas laterales cuya función normal estriba en servir de punto de enganche a las sustancias nutritivas de la célula, para el proceso de asimilación, que tiene como consecuencia el mantenimiento de la estructura celular y la fuente de energía.

Estas cadenas laterales o receptores son las encargadas de poner en contacto la célula con las sustancias nutritivas y las que tengan acceso a los líquidos en que se baña a la célula. Según la teoría de Erlich, los antígenos, cualquiera que sea su naturaleza, se unen a estos receptores por si mismos. Puesto que se trata de sustancias extrañas que no tienen parte alguna en la economía de la célula, los recep

-tores en cuestión se apartan de su función característica. Estimulada por esta alteración de su mecanismo regular, la célula produce nuevos receptores del mismo tipo desarrollándose excesivamente. Los receptores superfluos los esparce la célula en la sangre y en los humores del organismo y éstos constituyen los anticuerpos específicos. - La característica esencial de estos anticuerpos es de unirse con los antígenos correspondientes. Según Erlich, cada receptor consta de un complejo químico especial: el grupo haptófero, que de manera química se une con el grupo correspondiente del antígeno. De esta unión resulta en realidad la neutralización con estos elementos, ya esto basta para explicar el proceso, más en el caso de alterarse el antígeno en alguna forma, como ocurre cuando tiene lugar la aglutinación o la precipitación, Erlich admite en el receptor la existencia de otro -- grupo, al cuidado del cual estarían las modificaciones en la condi-- ción del antígeno después de haber prendido el grupo haptófero al anticuerpo. Este segundo grupo activo fué denominado grupo ergófero -- por Erlich.

Bordet (1899-1903) niega que las leyes corrientes de la unión química sean aplicables a las reacciones que entre antígeno y anti-- cuerpos ocurren, por cuanto las considera como pertenecientes a la categoría de las reacciones coloidales, en las cuales las reacciones determinantes son más bien de carácter físico que químico.

Arrhenius (1904-1915), por si solo o en colaboración con Madsen (1902) han tratado de conservar las ventajas que proporcionan la base química sobre la cual se funda la teoría de Erlich, pero evitando la necesidad de efectuar nuevas suposiciones a cada nuevo descubri-- miento. Emitió la sugerencia de que la reacción entre un antígeno y su anticuerpo no es análoga a la que tiene lugar entre un ácido y una

base enérgicos, sino que es una reacción reversible del tipo de las que ocurren entre las bases y los ácidos débiles, y que el equilibrio conseguido en cada caso particular es determinado por la concentración de las sustancias reactivas, conforme a la ley de la acción de las masas. De cada una de estas tres teorías deriva, en grados diversos, el concepto actual del mecanismo de las reacciones antígeno-anticuerpos.

PRECIPITINAS Y PROPIEDADES PRECIPITANTES.

Si bajo la piel o el peritoneo de un animal, se inyecta repetidamente una sustancia proteica (suero sanguíneo extraño, leche, clara de huevo, etc.) forma en el suero del animal anticuerpos denominados precipitinas. El suero del animal así tratado, adquiere el poder de producir precipitados in vitro cuando se ponen en contacto con soluciones de sus antígenos llamados aquí precipitinógenos. En consecuencia, la precipitación ocurre cuando cualquier antígeno en solución logra reaccionar con su antisuero correspondiente en presencia de electrolitos; a condición de que cada uno de los reactivos y las condiciones experimentales -temperatura, tiempo de incubación- se dispongan convenientemente.

Todos los líquidos albuminosos son susceptibles de provocar la formación de precipitinas; basta que provengan de una especie diferente. Así el suero sanguíneo, los derrames pleurales o peritoneales ricos en albúminas, la orina albuminosa, etc. Por otra parte, la reacción es tanto más intensa cuando las sustancias que las provocan pertenecen a especies más distintas de las que provienen.

Las precipitinas son termoestables y no son totalmente destruidas más que a 80°. El frío, la putrefacción no destruyen las materias

precipitables. No son exclusivamente específicas, en el sentido de que manifiestan su acción precipitante a la vez sobre una especie -- más o menos próxima. Así el antisuero humano, precipita no solamente a éste sino también el suero de mono. Pero esta precipitación es siempre más débil.

Tal reacción precipitante es de las más sensibles bastan trazas de la materia precipitable para dar lugar al enturbiamiento al precipitado característico. Parece ser que la temperatura óptima en que se verifica dicha reacción es a 37° , aunque a veces es más rápida a 55° , el calor a 70° impide la precipitación. También la neutralidad del medio y una concentración de cloruro de sodio de 0.9 % son factores importantes.

En la reacción de las precipitinas tanto el antígeno como el anticuerpo se hallan en estado de solución coloidal. Para que el compuesto antígeno anticuerpo salga del estado de solución al de carácter de precipitado se deberán clasificar como coloides hidrófilos, es decir, que lleven consigo agrupaciones que muestran una notable atracción para el agua que la mantiene en solución. Si ocurre alguna alteración que convierta estas agrupaciones en inaccesibles para la molécula de agua, o motive su pérdida de la natural afinidad para con esta molécula, el anticuerpo o el antígeno, o bien ambos, de hidrófilos pueden pasar a ser hidrófobos, originándose en este momento la aparición de un precipitado. Se supone que este cambio, del estado hibrófilo al hidrófobo, está asociado a la formación del complemento antígeno-anticuerpo. Los electrólitos como mencionamos antes desempeñan un papel esencial en la reacción de las precipitinas. Uno de los efectos es el producir una disminución de la carga eléctrica de las moléculas del anticuerpo o del antígeno, o del complemento antígeno-anticuerpo. Sin embargo, la acción de los electrólitos se ha estudiado mucho más

detalladamente en relación con la aglutinación.

En las reacciones de precipitación los precipitados derivan en su mayor parte de las proteínas del propio suero.

Este fenómeno fué descubierto por Krauss en 1897, fué considerado también por otros científicos y es a partir de ese momento que los trabajos e investigaciones se multiplican: Bordet reprodujo el fenómeno con suero procedente de diversos animales, y demostró además que el suero de conejo precipita solamente en presencia del suero de la especie animal inyectada a este conejo. Behring, Durhan, Erlich, Wassermann y otros estudiaron a su vez la reacción precipitante de los sueros; pero fué Pablo Uhlenhuth, bacteriólogo alemán, en el año 1901, quien por primera vez aplica esta reacción al género humano; prosigue con sus investigaciones hasta proponer su empleo en Medicina Legal. Obtiene partido de la especificidad relativa de la reacción para su aplicación a ciertas investigaciones destinadas a revelar el origen de la sangre procedente de manchas descubiertas sobre ropa y otros objetos.

Es pues, Uhlenhuth, de todos los experimentadores, el que más ha contribuido a que la reacción precipitante de los sueros entrara en la práctica de la Medicina Legal y es por eso que debido a un sentimiento de justicia que se le ha dado el nombre a dicho método. Este consiste en inyectar sangre humana desfibrinada de un animal A a un animal B de especie diferente, el suero de B adquiere la propiedad de dar un precipitado con la sangre de A, aún muy diluida en solución fisiológica de cloruro de sodio y solamente con esta sangre. El suero de B se convierte en el antisuero de A. Si, por ejemplo, un conejo recibe a intervalos inyección parenteral de suero humano como precipitativo, el suero de este conejo habrá adquirido, días después de la

ultima inyección, la propiedad de dar un precipitado al principio muy fino, luego coposo, por adición de una solución muy diluida de sangre humana. La sangre de carnero, de buey, de perro, etc., no daría en -- las mismas condiciones ningún precipitado, debido a que las precipiti-- nas son relativamente específicas.

Ya en párrafos anteriores queda explicado el fundamento de tan -- útil e interesante reacción. Su aplicación ha hecho tan frecuentes re-- velaciones y ha enlucido crímenes que ha terminado por contribuir a que la verdadera justicia, posea procedimientos para dar cierta e ine-- quívocamente con el origen de la sangre.

CAPITULO III

EXAMEN BIOQUIMICO DE LAS MANCHAS DE SANGRE

Todo objeto manchado de sangre debe someterse al Laboratorio, -- con el propósito fundamental de determinar si se trata o no de sangre humana.

Con este objeto se verifican las reacciones químicas de: Adler, Meyer, Van Deen, Cristales de Teichmann, etc., que permiten caracteri-- zar la hemoglobina y sus derivados, y, cuando ha dado resultados posi-- tivos, se puede afirmar con seguridad la presencia de sangre en las -- manchas; pero queda por saber a qué clase de animal pertenece. Para -- ello se cuenta con métodos biológicos o inmunológicos como el de la -- reacción de sueros precipitantes "precipito reacción" o "reacción de UHLENHUTH", con la cual se ha hecho posible reconocer con seguridad -- la procedencia de la sangre desecada desde largo tiempo, o aún des--- pués de comenzada la putrefacción de la materia sanguínea.

TECNICA PARA PREPARAR SUEROS PRECIPITANTES

La preparación de sueros precipitantes comprenderá las siguientes etapas:

1o.- Recolección de sangre total y suero humano.

2o.- Inoculación del antígeno a los conejos.

3o.- Recolección del antisuero humano.

1o.- RECOLECCION DE SANGRE TOTAL Y SUERO HUMANO.

a) La sangre se obtiene de una vena de la flexura del brazo, por medio de una jeringa estéril.

b) Tomamos las muestras por la mañana antes del desayuno, para evitar los cambios que se producen a consecuencia de la ingestión de los alimentos.

c) Como en la experimentación empleamos sangre total se hizo necesario recogerla con un anticoagulante (oxalato de sodio). También utilizamos suero y para su obtención se depositó la sangre sin anticoagulante en un tubo seco estéril; dejándole en reposo por poco tiempo, hasta que se formó el coágulo. Cuando el coágulo se ha retraído, si está adherido a las paredes del tubo, se separa suavemente y se centrifuga a 1200 revoluciones por minuto, quince minutos. Luego el suero se pasa a otro tubo limpio y seco, por medio de una pipeta o por decantación.

d) En esta forma se obtuvo suero transparente y libre de partículas sólidas.

2o.- INOCULACION DEL ANTIGENO A LOS CONEJOS.

Con la inoculación del antígeno (sangre total o suero humano) sensibilizamos al animal que nos proveerá de suero precipitante humano. Para ello utilizamos el conejo, que es el animal de elección, el cual ha de estar sano y completamente desarrollado. Con este fin man-

tuvimos a los conejos con quienes vamos a trabajar doce días en observación.

En general el precipitinógeno se inyecta por la vía parenteral (venosa, peritoneal o subcutánea); siendo la vía venosa la que ha dado mejores resultados y por consiguiente es la vía que hemos elegido en este caso.

El lugar a inyectar es la vena auricular posterior que corre a lo largo del borde externo de la oreja que se presta mejor a este fin que una de las venas medianas.

Para practicar la inyección intravenosa al conejo seguimos la técnica siguiente:

1.- Como hemos de administrar cierto número de inyecciones, comenzamos inyectando la primera en el punto más cercano posible a la punta de la oreja; porque la vena puede resultarnos ocluida por trombos y las inyecciones consecutivas las podemos practicar entonces cada vez más cercanas a la raíz de la oreja.

2.- Con el objeto de hacer más visible la vena cortamos los pelos de la oreja.

3.- En el momento de inyectar mantenemos al animal fuertemente sujeto, porque el más ligero movimiento hace que la aguja atraviese la vena y entonces tendríamos que repetir la inyección. Para conseguir la completa inmovilización del conejo, le colocamos en el borde de la mesa manteniéndole firmemente sobre ella; necesitamos de un ayudante que le sujete el cuello y cuartos anteriores y comprima al mismo tiempo la raíz de la oreja con el pulgar y el índice.

4.- Frotamos suavemente la oreja con los dedos y lavamos con alcohol y xilol; la vena se hace más ostensible por la fricción.

5.- Tomamos la oreja por la punta, la estiramos bien y la enrollamos con suavidad sobre el índice izquierdo, manteniéndola sujeta - aspecto de sus neces. Prestamos especial atención a la posible salivación, a las secreciones nasales y conjuntival y a las secreciones del punto de inoculación. También controlamos el peso semanalmente, haciendo la pesada a la misma hora y en las condiciones que verificamos la primera.

oreja.

Antes de sangrar al conejo le dejamos en ayunas dieciocho horas; en esta forma evitamos la opalescencia del suero, que nos dificultaría la observación de los precipitados.

La sangría del conejo la hacemos por la vena auricular poniendo en práctica la siguiente técnica:

a) Golpeamos vigorosamente la oreja con una mano y frotamos con xilol y alcohol. El xilol produce congestión pronunciada y luego lo separamos cuidadosamente con agua para evitar la reacción inflamatoria que produce.

b) Seguidamente puncionamos la vena auricular con una aguja gruesa. La sangre fluye rápidamente en gotas, hasta que logramos obtener 20 c.c. que es la mayor cantidad de sangre que podemos extraerle a un conejo de dos kilos de peso.

c) La sangre que hemos recogido en tubo de ensayo seco, limpio y estéril le dejamos en reposo para que el suero se aparte y seguidamente le obtenemos empleando la misma técnica que ya hemos mencionado.

Se obtuvo suero absolutamente límpido y rigurosamente aséptico, que a continuación distribuimos en ampollas de vidrio estériles de 1 c.c. que cerramos a la llama y guardamos cuidadosamente en refrigeración para preservarle de la contaminación bacteriana.

En el caso de que se formara espontáneamente un ligero precipitado al cabo de algunos días o semanas, se puede utilizar el suero límpido que sobrenada después de centrifugación o decantación, suero que no ha perdido ninguna de sus cualidades, el cual empleamos para realizar la "reacción de Uhlenhuth" y cuyo resultado positivo hace posible probar el origen de la sangre humana en las manchas.

PRACTICA DE LA REACCION DE UHLENHUTH

La muestra sospechosa que sometemos a esta reacción, la preparamos macerando en un tubo de ensayo pedazos de tejido o raspado de la superficie de los objetos cuyas porciones están manchadas de sangre, disolvemos en solución salina de cloruro de sodio (0.9%) y le dejamos en reposo en un lugar fresco y sin agitarlo; de esta manera los restos quedan en el fondo, y la capa superior del líquido límpido se tinte de amarillo pálido por la difusión de la hemoglobina. Después de macerarle algunas horas (3 a 6) o aún más sobre todo si las manchas son antiguas, logramos la disolución de las albúminas lo cual conseguiríamos mucho más rápidamente si las manchas fuesen recientes.

La solución la aclaramos por centrifugación y decantación con una pipeta capilar. Es condición indispensable para que la reacción tenga valor estar perfectamente límpidos tanto la solución o líquido que hemos de examinar como el suero precipitante. Entonces tenemos la solución sospechosa preparada para la investigación de sangre humana por medio de la reacción de las precipitinas o reacción de Uhlenhuth.

Dicha reacción la practicamos usando siete tubos delgados de dos a tres centímetros cúbicos los cuales distribuimos de la siguiente manera:

| TUBOS | EXPERIMENTOS DE COMPROBACION | SUERO PRECIPITANTE |
|-------|---|--------------------|
| No. 1 | 0.9 c.c. de solución en suero fisiológico de la mancha sanguínea. | 0.1 c.c. |
| " 2 | 0.9 c.c. de solución sanguínea en suero fisiológico. (testigo) | ----- |

| TUBOS | EXPERIMENTOS DE COMPROBACION | SUERO PRECIPITANTE |
|-------|---|--------------------|
| No. 3 | 0.9 c.c. suero fisiológico estéril, utilizado en disolver la mancha sospechosa. | 0.1 c.c. |
| " 4 | 0.9 c.c. solución en suero fisiológico de un lugar no manchado de la tela u objeto en examen. | 0.1 c.c. |
| " 5 | 0.9 c.c. de suero de conejo diluido 1 en 1000 en suero fisiológico | 0.1 c.c. |
| " 6 | 0.9 c.c. de suero de vaca, pollo, etc. - diluido 1/1000 en suero fisiológico. | 0.1 c.c. |
| " 7 | 0.9 c.c. de suero humano diluido 1 en 1000 en suero fisiológico | 0.1 c.c. |

A cada tubo, menos al 2, le agregamos 0.1 c.c. de suero precipitante humano, dejándole caer suavemente por la pared del tubo, y hacemos permanecer los tubos en reposo a la temperatura ambiente.

La reacción se inició entre los cinco a quince minutos, con el enturbiamiento u opacidad en el punto de contacto de los líquidos y que después al cabo de dos o tres horas se convirtió en un precipitado veloso bien perceptible.

Las modificaciones se producen en los tubos 1 y 7 con ausencia de reacción en los tubos restantes, lo cual nos indica que el extracto en examen contiene proteína humana. Debido a que la formación de precipitinas no caracteriza la presencia de sangre, sino la de las albúminas de la sangre y, sobre todo, de las globulinas; por consiguiente siempre será preciso caracterizar la presencia de la hemoglobina para demostrar que se trata realmente de sangre.

SENSIBILIDAD DE LA REACCION.

Ya sabemos que para verificar la reacción la mancha de sangre -

se disuelve de manera que se obtenga una solución que contenga por lo menos un milígramo de sangre.

En realidad es difícil obtener una disolución total; pero este inconveniente está compensado de sobra por la actividad del suero - empleado, que produce todavía el precipitado característico con diluciones de sangre al 1/20.000.

CAUSAS DE ERROR DE LA REACCIÓN.

Las causas de error que cabe en esta reacción es lo que se llama el parentesco de las sangres; la de los monos antropoides precipita con el antisuero humano; la del carnero y cabra con el antisuero del buey; la del asno y la mula con el antisuero del caballo y la de todas las aves con el antisuero de cualquiera de ellas. Pero diluyendo suficientemente las diluciones se puede llegar a una en la que el precipitado no se forme más que con la sangre del animal sospechoso. Otro inconveniente es el de que la reacción da un resultado positivo no solamente con la sangre sino con otros productos - secretorios y excretorios del hombre (orina albuminosa, pus, mucosidades, etc.) por contener albúminas.

A pesar de los inconvenientes que presenta esta reacción, el procedimiento es muy sensible y seguro, y da buenos resultados aún con manchas pequeñísimas o después de transcurridos muchos años.

Hasta aquí con la reacción de UHLENHUTH queda demostrado que la sangre de la mancha que se analiza es de origen humano. Pero a veces es indispensable establecer si la sangre pertenece a la víctima, al ejecutor o a un tercero.

CAPITULO IV

IDENTIFICACION INDIVIDUAL DE LA SANGRE EN LAS MANCHAS

La clase de sangre de cada individuo determinada por los gru-

pos sanguíneos es, como las impresiones digitales, un carácter permanente personal e indestructible; nada logra cambiarla; ni la enfermedad, ni el régimen alimenticio, ni la edad, ni el clima.

Estos grupos sanguíneos en que puede clasificarse al género humano se agrupan de acuerdo a las aglutininas contenidas en el suero y a los aglutinógenos existentes en el estroma de los hematíes. Determinado por su presencia o ausencia cuatro combinaciones biológicas posibles designadas bajo la denominación de grupos "A", "B", -- "AB", "O", (Landsteiner).

Esta clasificación de la sangre, era antes de utilidad sólo en las transfusiones sanguíneas, ahora lo es también en la identificación de criminales al establecer mediante la determinación del grupo sanguíneo a quien pertenece la sangre encontrada en las manchas que delatan el crimen.

Un ejemplo hipotético demostrará como las pruebas de agrupación sanguínea pueden ser útiles en los procesos criminales.

Supongamos que se ha cometido un asesinato y al sospechoso que se detiene se le encuentran manchas de sangre en su ropa. Una defensa es frecuentemente ofrecida por esta clase de detenido, expresando que es su propia sangre, pues se cortó cuando se afeitaba, etc. Si las pruebas de agrupación sanguínea demuestran que el aglutinógeno contenido por la mancha de sangre no corresponde con el de la -- sangre del detenido, sino que coincide con el del occiso, ello echará por tierra la coartada del acusado. En esta forma pueden ayudar no solamente a declarar convicto al culpable, sino también a -- exonerar al inocente.

En general, las pruebas de agrupación sanguínea en las manchas se usan para la identificación individual de ellas y solamente con

el propósito de exclusión. Así, el hecho de que una mancha contenga sangre humana del mismo grupo del asesino y su víctima, no prueba - que la mancha contenga la misma sangre; sin embargo quizá se descubran señales de alguna enfermedad en la sangre de alguna de las dos personas. Tales como la anemia, diabetis, sífiles, paludismo y otras enfermedades que sirven a veces para distinguir la sangre de una -- persona de la de otra. Cuando en la sangre no se manifiesta ninguna enfermedad, pueden utilizarse los métodos practicados por el doctor Wilhelm Zangemeister, especialista en coloides sanguíneos, que ha -- encontrado ciertas diferencias en la cantidad de luz dispersada por grupos de moléculas de sangre diferentes.

Cuando el investigador quiere saber si la sangre que mancha la ropa u otros objetos es del presunto agresor o de la víctima, lo -- primero que hace es averiguar a que grupo sanguíneo pertenecen y -- comparar con la sangre de las manchas.

La determinación de las propiedades grupales de los glóbulos - es relativamente sencilla en su técnica, porque su aglutinación se efectúa rápidamente. Pero otra cosa sucede cuando se trata de man-- chas de sangre donde casi siempre en el extracto obtenido se encuen-- tran los glóbulos alterados, por eso es mejor practicarlo con mate-- rial relativamente fresco.

Las pruebas de agrupación con sangre de cadáveres se realizan en la misma forma que las pruebas con sangre fresca. Dependiendo de la temperatura a que el cuerpo se conserva, la sangre postmortem -- puede reaccionar típicamente por período hasta de una semana o mayo-- res aún. Cuando la temperatura es alta y el cuerpo no está en refri-- geración, la descomposición, puede presentarse muy rápidamente, de manera que aún después de 24 horas, la sangre puede estar grandemen-- te hemolizada e imposibilitar las pruebas de agrupación. Es evidente

que el mejor momento para determinar el grupo sanguíneo del occiso es en el acto de la autopsia.

Por eso es conveniente proceder al tipo de la sangre post-mortem en todos los casos de asesinatos. Esta información es archivada, y si más tarde se detiene a un sospechoso con manchas de sangre en su ropa o en los artículos en su poder, se prueban éstas y se comparan con el grupo del occiso. Como ya se ha expresado anteriormente, puede lograrse mucho más con manchas de sangre frescas y húmedas, y con menos esfuerzos, que con manchas de sangre seca.

El perito químico designado para llevar a cabo pruebas de agrupación con manchas de sangre seca, deberá estar propiamente habilitado por su larga experiencia en esta clase de labor. Porque es un trabajo difícil y delicado.

TECNICA DEL EXAMEN DE LAS MANCHAS SANGUINEAS.

Al encontrarse la mancha y si está todavía húmeda, debemos colocar una porción en una solución salina normal, antes de que llegue a secarse. La suspensión sanguínea en esta forma obtenida, se diluye en una solución salina normal concentrada al 2% y luego se prueba con antisueros A, anti B, anti M, y anti N en la forma usual.

Las manchas de sangre seca, al igual que las frescas, deberán ser examinadas cuantas veces sea posible, para determinar su contenido tanto en iso aglutininas como en aglutinógenos. Cuando las manchas son pequeñas y no pueden realizarse todas las pruebas, se requiere una experiencia considerable para determinar como debe usarse el material con la mayor ventaja posible. Siempre deberán hacerse preliminarmente las pruebas química y de precipitina para determinar si la mancha está o no constituida por sangre humana.

CAPITULO V

CASOS PRACTICOS

1.- Se nos presentó la oportunidad de comprobar el antisuero - que obtuvimos cuando a principios del mes de Marzo del presente año, el Juez de la Instancia de Atiquizaya, envió un machete al Decanato de la Facultad de Química y Farmacia, con el objeto de que se le determinara si las manchas adheridas eran de sangre humana.

El Decano de dicha Facultad, Dr. Víctor Ortíz, nombró a los técnicos Doctores Juan Ramiro Díaz y Pedro Antonio Angel para llevar a cabo esta investigación.

Se procedió primeramente a realizar las pruebas químicas para determinar la naturaleza de la muestra y con el resultado positivo pudimos afirmar que la mancha era de sangre; después se practicó la reacción de UHLENHUTH dando con el suero que preparamos una reacción positiva a los cinco minutos. En esta forma quedó probado que las manchas eran de sangre humana.

Para comprobar la sensibilidad del suero que obtuvimos se hizo otra reacción con suero precipitante traído de Chile y la reacción fué idéntica a la obtenida con el suero nuestro. Además de esto hemos comparado con sangre animal y en estos casos la reacción ha sido negativa, es decir que no se ha formado ningún precipitado.

2.- Solicitamos casos a los diferentes Juzgados de la capital habiéndonos proporcionado el Juzgado Quinto de lo Penal, dos armas (machetes) pertenecientes a Urbano Martínez Mendez y Pedro Navidad quienes se encuentran procesados por imputárseles hechos de sangre.

Los machetes presentaban manchas secas extensas, adheridas, -- sin brillo, de un color rojo oscuro, que se confunde con el color del machete. Recogimos la muestra para someterla al análisis raspando con una navaja limpia y luego maceramos en suero fisiológico --

por algunas horas; con la solución obtenida investigamos mediante las reacciones químicas: de orientación, certeza y reacción suero - precipitante la naturaleza y origen de las manchas. Comprobamos que eran realmente de sangre humana por el resultado positivo obtenido.

3.- Este caso se refiere al crimen cometido en Santa Tecla, en la persona de Margoth v. de Campos. Para investigación de sangre humana se nos presentaron muestras constituidas por pedazos de palo - con el que habían golpeado a la víctima; pudimos advertir en ellos manchas pequeñas, de un color rojo oscuro. Procedimos a macerar en suero fisiológico los pedacitos de palo y practicamos las reacciones características del caso dándonos resultados positivos.

4.- Corresponde este caso, al de un accidente de tránsito ocasionado por un automóvil diplomático que tuvo como resultado fatal la muerte de un individuo. Para identificar sangre humana se recogieron en el lugar del suceso objetos manchados los cuales tuvimos a la vista y que consistían en: algodones, pañuelos manchados recientemente con abundante cantidad de sangre, de un color rojo vivo y muy visibles por encontrarse en lienzos blancos y absorbentes. -- También hay muestras consistentes en pedazos de vidrio y un aro del farol del carro en los que advertimos manchas de un color rojo oscuro, con relieves visibles.

Con el objeto de confirmar la naturaleza y origen de ellas procedemos a preparar las muestras y luego a practicar las reacciones que en otros casos hemos mencionado. Nuestra investigación nos llevó a la conclusión de que las manchas son de sangre humana por haberlo confirmado con las reacciones positivas del caso.

C O N C L U S I O N E S

- 1.- Antes de verificar la determinación de sangre humana es imprescindible realizar las pruebas de orientación y de certeza.
- 2.- Conveniencias encontradas al practicar la reacción de UHLENHUTH, en los casos realizados, es aconsejable partir de las cantidades a utilizar: 0.9 de solución problema y 0.1 de suero precipitante.
- 3.- Por los testigos de sangre animal que empleamos, en los cuales fueron negativas las reacciones, es aconsejable considerar el término de dos horas como final para las reacciones positivas y negativas, porque en este tiempo se encontró un precipitado más coposo.
- 4.- Por ser muy sensible esta reacción, cuando se obtiene una muestra macerada del problema y se presenta demasiado concentrada es conveniente diluirla más para observar mejor la reacción.
- 5.- Es recomendable también que para obtener la maceración de la muestra problema se utilice como disolvente suero fisiológico al 9% en vez de agua destilada, porque el suero fisiológico favorece la precipitación por contener electrólitos.
- 6.- Dado que los Tribunales de la República envían a los Laboratorios de la Facultad de Química y Farmacia, con base en el Art. del Código Penal, objetos manchados de sangre para verificar su análisis, es necesario que en la Facultad se preparen estos sueros.
- 7.- Que siempre que se trate de investigar manchas de sangre debe realizarse el diagnóstico de su origen humano, aconsejando que se practique la reacción de UHLENHUTH.

TEMAS DE PROPOSICION

- 1.- Sangre. - Química Biológica.
- 2.- Antihistamínicos. - Terapéutica.
- 3.- Tinturas. - Galénica.