

Mejora a la prueba de Barberio mediante la aplicación de Azul de Bromotimol, como revelador de la reacción, mediante las características colorimétricas

Improvement to the Barber test by the application of Bromothymol Blue, as revelator of the reaction, through colorimetric characteristics

Fecha de Presentación: 28 febrero 2017

Fecha de Aceptación: 30 marzo 2017

Carolina de la Concepción Nava Ibarra

Colegio Libre de Estudios Universitarios Campus León

32

“Espermatozoides tiene el tamaño menor de la millonésima parte de un grano de arena.

Resumen

La problemática con los métodos de identificación de semen, alteran la muestra impidiendo realizar estudios posteriores de ADN, además no existe un método o técnica que revele el semen en la escena del crimen, debido a que las técnicas para revelar el semen, incluyendo la técnica de Barberio, que se emplea el uso de la microscopía para revelar sus resultado, siendo este un impedimento para su estudio en el lugar de intervención. Utilizando un indicador de pH Azul de Bromotimol al aplicarlo en la reacción de Barberio en semen nos da la certeza que el fluido analizado es semen.

Palabras Clave

Semen, Técnicas Cristalográficas, Técnicas de Luz, Química, Técnica de Barberio.

Abstract

The problem with methods of identifying semen, alter the sample and prevent subsequent studies of DNA, in addition there is no method or technique that reveals the semen at the scene of the crime, because the techniques to reveal the semen, including the technique Of Barberio, that the use of the microscopy is used to reveal its result, being this an impediment for its study in the place of intervention. Using a pH indicator Blue Bromothymol when applied in the Barber reaction in semen gives us the certainty that the analyzed fluid is semen.

Keywords

Semen/ Crystal Clear Techniques/ Techniques of Light/ Chemistry/ Barber Technique

INTRODUCCIÓN

Desde el comienzo del siglo XIX aún existía la creencia que desde siglos atrás se tenía presente, referente a las funciones únicas de cada sexo, y la reproducción humana. La creencia se basaba en la bipolaridad entre masculinidad y feminidad. También se creía que la descendencia dependía del semen el cual fecundaba el óvulo, (Echeverría, 2007).

Antón van Leeuwenhoek fue un científico holandés el cual fue el primero en realizar importantes observaciones con microscopios desde el año 1674 hasta su muerte realizó diversos descubrimientos por medio del microscopio y este hombre fue el precursor de la Biología Experimental, la Biología Celular y la Microbiología, (Echeverría, 2007).

Hasta 1677 se descubrieron los espermatozoides. Los descubrió, Johan Ham, un estudiante de la escuela de medicina de Leiden con un microscopio construido por su maestro Antón van Leeuwenhoek. Tres años antes, el propio Leeuwenhoek había observado ciertos corpúsculos pero le desagradaba la idea de estudiar semen, apartó el estudio y se dedicó a otras cosas, (Echeverría, 2007).

Cuando Ham le enseñó su preparado, Leeuwenhoek pudo observar con su propio microscopio que en él había pequeños animales con cola. Posteriormente estudió su propio semen, y descubrió multitud de animáculos con una cola transparente y un tamaño menor de la millonésima parte de un grano de arena. Sus observaciones fueron dadas a conocer en la Royal Society y por eso se considera que Leeuwenhoek fue el descubridor de los espermatozoides, (Gómez, 2010).

La Química como una ciencia forense

“La química continúa evolucionando de una manera experimental, por la técnica en la fabricación y elaboración de objetos de producción y consumo. La elaboración de productos químicos los cuales ayudan o facilitan el trabajo de diversas personas, así como también los métodos empleados se realizan en el ámbito experimental de una manera más eficaz y con una mejora para la obtención de los resultados, estos sean más certeros” (Gutiérrez, 1985).

Las diversas ciencias forenses se basan en la aplicación de los diversos métodos científicos a los procesos de la materia la cual se involucran con un crimen.

Existen diversas ramas de las ciencias forenses

entre ellas la Química Forense, la cual es una alternativa para la investigación criminal, ya que ésta aporta resultados convincentes, además de certeros con la comprobación científica de los resultados obtenidos, complementado con un conocimiento analítico cuantitativo y cualitativo.

La Química Forense se aplica en una gran variedad de técnicas y métodos los cuales pueden ser cualitativos o cuantitativos, y la

“La premisa de la química forense, si dos objetos entran en contacto, habrá un intercambio entre los dos.”

finalidad de esto es la búsqueda de respuestas provenientes de las diversas evidencias obtenidas, que ayudan a la resolución y esclarecimiento de un caso criminal.

La Química Forense coadyuva en la procuración y administración de justicia a descifrar los tóxicos, químicos u otras clases de sustancias ilícitas, así como las manchas encontradas en el lugar de hechos o de hallazgo.

Una de las primeras investigaciones que se realizaron referente a la Química Forense fue en el año 1989 en Francia, cuando Alexandre Lacassagne identificó el cuerpo de una persona que había sido reportada como desaparecida tiempo atrás, Lacassagne identificó dicho cuerpo por medio del análisis de un pelo.

El pelo del cadáver era negro, mientras que el pelo del hombre perdido era café, Lacassagne sabía que el color de pelo cambiaba cuando el cadáver se encontraba en el ataúd, así que lo lavó en varias ocasiones y encontró que su color original era café, más tarde solicitó a un químico que lo analizara, y es en este momento que inicia la Química Forense, con un minucioso análisis de los objetos relacionados con un crimen.

“El trabajo de un químico forense consiste en reunir pruebas científicas para el esclarecimiento de un crimen.

En la actualidad emplean técnicas de análisis más elaboradas y estas van desde la identificación y clasificación de huellas dactilares, análisis de drogas, sangre, y material biológico, pelos, suelo, documentos y actualmente hasta cromosomas” (Garriz, 1994).

Por lo que se considera que la Química Forense es una ciencia auxiliar de las más importantes con las que se pueden contar para el esclarecimiento de un hecho, además de que la Química Forense obtiene sus resultados de una manera experimental y los mismos son comprobables, por lo que esta ciencia genera resultados concretos.

La ciencia forense no sólo es un camino para la determinación



de lo que ocurrió en la escena de un crimen. Es un camino para pensar y enfocar un problema de una manera científica que al final proporcionará una explicación científica sólida de los acontecimientos ocurridos.

La relación que se tiene con la Química Forense y la Criminalística es muy estrecha, ya que principalmente ambas se basan en la comprobación mediante métodos técnicos y científicos comprobables, con el fin de obtener resultados concretos y sustentados mediante las ciencias exactas, para el esclarecimiento de un hecho posiblemente delictuoso por lo que ambas van de la mano para conseguirlo.

“De acuerdo a la Dra. María E. Báez Contreras del departamento de química inorgánica y analítica de la facultad de ciencias químicas y farmacéuticas de la Universidad de Chile, uno de los principios fundamentales de la ciencias forenses y en este caso de la química forense se basa en la premisa de que dos objetos entran en contacto, habrá un intercambio entre los dos, por lo que cada contacto deja un rastro, lo cual lo dice el padre de la criminalística moderna Edmund

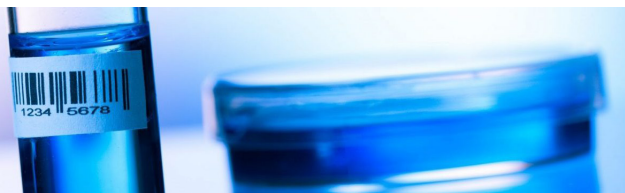
la pauta para los análisis correspondientes a los diversos vestigios encontrados en una escena, por lo que a pesar de que no siempre el químico se sitúa en el lugar para la recolección de las muestras, el embalaje y el traslado al laboratorio para los análisis correspondientes, esta labor la hace también el criminalista de campo, por lo que este debe de igual manera tener los conocimientos necesarios referente a la química forense para poder realizar un adecuado rastreo de indicios y con ello la toma de muestras correspondientes para el debido análisis.

Un adecuado rastreo de manchas y el levantamiento de las mismas ayudan a tener una mayor certeza de que los análisis a realizar serán certeros, para poder así llegar a un esclarecimiento de hechos adecuado.

El propósito de esto es que deben de aprovecharse todos los recursos necesarios y disponibles para la localización de las diversas manchas que se tendrán en el lugar, desde el uso de la luz natural, luz artificial, el tacto, la óptica, entre otros métodos.

Las diversas manchas deben de buscarse en las zonas en la cual exista mayor probabilidad de encontrarse, y una vez encontradas deberá de registrarse las condiciones en la cual es encontrada la mancha, el aspecto que presenta la misma, las condiciones físicas y si es posible condiciones químicas en la que se encuentra la mancha, para que así el químico forense pueda realizar los análisis correspondientes a la misma, y de esta manera tratar la muestra para que se obtengan los resultados concretos, más certeros posibles.

34



Locard, es por ello que el químico debe rastrear este intercambio entre materiales y trae a la luz lo que es invisible para el ojo humano. Para ello basándose en sus conocimientos, métodos y técnicas desarrolladas, por lo que este tiene la capacidad de rastrear las huellas o vestigios que se tienen en una escena el crimen” (Contreras, 2006).

El químico forense trabaja con sustancias que no son biológicas, tales como pintura, líquidos, pólvora, o algunas otras sustancias que se encuentran en una escena de un crimen y lo cual pueden ser relevantes para la investigación del caso y el esclarecimiento del mismo, empleando básicamente los métodos analíticos correspondientes.

Por lo cual los químicos forenses tiene tres tareas principales una vez obtenida la muestra, las cuales son analizar las evidencias en el laboratorio, después se interpreta la información obtenida de ellas, y finalmente se defiende lo encontrado mediante la testificación del químico forense.

La labor del químico forense es no comienza desde el laboratorio para los análisis correspondientes, la tarea del químico comienza desde que se está en la escena del crimen ya que es ahí donde se dará

Antecedentes de la investigación del semen

Se considera de suma importancia en la investigación forense la identificación de una muestra tomada o recabada en una escena del crimen por lo que determinar la naturaleza biológica y especie de procedencia de dicha muestra debe ser confiable para su aplicación forense.

“En especial para el fluido seminal o el semen, existen diversos métodos de identificación entre los más empleado son la determinación de fosfatasa ácida la cual es una técnica muy sensible, la microscopia es considerada una técnica confirmativa ya que se detecta el espermatozoide en el semen” (Ambriz, 2002).

Muchas de estas pruebas son consideradas pruebas de orientación para la identificación de manchas de semen en un lugar de hechos. Las cuales no nos confirman como tal la presencia del fluido en el lugar, pero de acuerdo con las características del mismo nos da la pauta a pensar que se trata de dicho fluido. (Ambriz, 2002)

Técnicas Cristalográficas de Identificación

Las diversas técnicas cristalográficas fueron los primeros test no morfológicos propuestos para semen. Algún número de modificaciones se han propuesto, y otros test de este tipo, basados

en diferentes constituyentes activos de plasma seminal, han sido publicados. El reportaje inicial de un test cristalográfico para semen estimuló en parte la actividad en la comunidad médico-legal, ansiosa de tener un test no morfológico digno de confianza a su disposición.

“De acuerdo con el Dr. Florense se ha considerado como un test presuntamente útil que ahorraría el tiempo requerido para concluir una búsqueda cuidadosa para células de esperma en cada mancha seminal sospechosa. El reactivo se prepara con 1.65 g de KI y 2.54 g de yodo en 30 ml de agua. Se comprobó que el test era bastante sensible y siempre se obtenía positividad con manchas seminales. Los cristales característicos que aparecían no se formaban a partir de mucus nasal, vaginal, orina, sudor, saliva, lágrimas, leche, fluido cerebral o descarga leucorreica, ni con varias muestras de semen animal ensayados” (Gómez, 2010).

Otras de las técnicas que se han encontrado o descubierto a lo largo del tiempo para la identificación del semen en el ámbito médico-legal, es el test Barberio el cual se empleaba una solución saturada de ácido pícrico. Podían obtenerse resultados positivos con semen, manchas seminales y material seminal parcialmente podrido. Mucus vaginal, mucus nasal y saliva no daban la reacción. Barberio pen-

“Semen fluido espeso y de color blanquecino en el que se encuentran en suspensión los espermatozoides”

só que la sustancia en semen responsable para la reacción era orgánica, se hallaba presente en plasma seminal, incluso en ejemplares azoospermicos, y era diferente de la sustancia reactiva en el test de Florence (Gómez, 2010).

Para determinar el semen en cuanto al aspecto bioquímico se recurre a las reacciones de Reacción de Puranen en el que se utiliza el ácido flaviánico, en el cual se obtiene cristales de espermina (en cruz de San Andrés), y la Reacción de Guarino: utiliza el trinitro-resorcina, obtiene cristales de espermina (en esqueleto de ramas de pino, de color amarillo-verdoso) (Gómez, 2010).

Los métodos mencionados con anterioridad se realizan estrictamente en un laboratorio para que los

resultados que se obtengan sean sumamente confiables. Por lo cual las técnicas empleadas en la actualidad no se realizan directamente en el lugar donde se encuentran, por lo que deben de ser recolectadas y enviadas a un laboratorio correspondiente para su análisis.

Técnicas de Luz para Identificación de Semen

Uno de los métodos para la identificación del semen es el empleo de la luz ultra violeta o luz azul, estas consisten en la exposición de la mancha a la radiación ultravioleta, la cual inducirá una fluorescencia característica con una intensidad máxima de cerca de 4200mu. De todas formas, el gran problema que presenta la fluorescencia es que no es específica del semen, sino que producirá la misma reacción con otros fluidos biológicos.

Esta técnica es de utilidad principalmente para el estudio de grandes superficies donde se sospecha que ha habido un delito de índole sexual y no ha podido ser determinado el sitio donde presuntamente se encontrarían las manchas. Estas últimas florecerán sobre fondos no fluorescentes, por lo que en algunos casos donde las prendas contienen fibras de blancos ópticos, se obtiene el efecto inverso donde las manchas florecerán con menor intensidad al resto de la tela (Carma, 2010). Concepto de secuestro (Martíñón, 2012)

Evolución de las Técnicas de Análisis

La identificación del fluido seminal ha sido un gran problema a lo largo del tiempo principalmente para la ciencia forense. Existen diversos métodos y técnicas para la identificación del semen que se han empleado a lo largo de los siglos por lo que cada uno de estos métodos fueron eficaces en sus años pero al paso de los tiempos estos métodos han presentado cuestionamientos respecto a su efectividad de certeza de la muestra de semen. Se muestran diversos métodos desde los más sencillos hasta los más complejos que se conocen en la actualidad.

Los primeros esfuerzos presentados para la identificación del fluido seminal se basan en pruebas químicas al igual como para identificar la sangre, en las investigaciones forenses. Como principal antecedente se tiene en el año 1826, Olliver d'Angers y Barrue, informó sobre un caso de violación sexual que él mismo había consultado. En el cual el sospechoso afirmaba que la mancha en sus prendas habían sido producidas por la grasa de los animales que el cocinaba (Geffner, 2005).

El expertos en el tema examinaron las áreas de la ropa manchada junto con una tela control, para así compararlas con respecto a la humedad de la tela, el color del extracto acuoso y el comportamiento del extracto con alcohol absoluto, este tenía un olor espermático, y después del secado de la prenda esta presentaba un aspecto pegajoso, por lo que se concluyó que se trataba de semen, siendo esta una de las principales técnicas utilizadas en la identificación del semen por medio de las propiedades organolépticas (Gómez, 2010).

“En 1827 el Dr. Orfilia informó sobre una serie de pruebas químicas para la identificación del fluido seminal. Las pruebas que el Dr. ideó para la identificación del semen o el fluido seminal, se basan principalmente en la aparición de las manchas, cambios de color, y consistencia por el calentamiento, el olor emitido al humedecer la mancha” (Geffner, 2005).

En 1834 Chevallier informó sobre sus exámenes en un caso de violación sexual empleando los métodos que habían sido descritos por Orfilia, el cual no utilizó un microscopio. Ya que la prueba para la identificación del semen era por medio de cambios de color o consistencia, bastaba la observación detallada de la sustancia (Geffner, 2005).

“En 1837 Rattier publicó un documento en cual sugiere que los espermatozoides pueden ser identificados en las manchas seminales. El cual dijo que había identificado una mancha seminal mediante la detección microscópica de espermatozoides” (Geffner, 2005).

En 1839 Bayard publica un artículo sobre el uso del microscópico para examinar en el fluido seminal la presencia de espermatozoides y se aportaron diversos procedimientos que fueron establecidos para la realización de técnicas y métodos de análisis al microscopio. Los métodos químicos anteriores se abandonaron por mucho tiempo, toda vez que bastaba apreciar en la muestra observada por medio del microscopio los espermatozoides característicos del semen (Geffner, 2005).

“En 1858 Lassaigne indicó que existe una serie de reactivos en el cual se dieron diferentes tipos de reacciones al ser empleados a diversas manchas de fluidos corporales” (Geffner, 2005).

En el año de 1879 Brouardel revisó diversas técnicas de identificación de manchas seminales, en las cuales resaltó que la microscopía es la principal técnica para la identificación de dichas manchas. Aunque dijo no poder concluir que efectivamente se trataba de semen ante la ausencia de los espermatozoides en la muestra, a pesar de que el uso del microscopio era efectivo para el reconocimiento del semen no daba la certeza del mismo cuando ocurren casos de muestras con ausencia de espermatozoide (Geffner, 2005).

En 1880 Pedro I y Labiche propusieron una técnica de identificación de manchas de fluidos corporales, observaron que muchos de los fluidos corporales y otras manchas tomaban un color carmín ante la presencia de una solución de carbonato de sodio, éstas a diferentes tiempos por la decoloración de las manchas. Argumentando que las manchas seminales requieren de 12 horas para decolorarse.

En 1903, Robert Williams Wood desarrolló un filtro de vidrio que bloquea la luz visible pero permite que

la luz ultravioleta pase a través de ésta. Wood utilizó este filtro para tomar las primeras fotografías ultravioletas, el 1911 publicó un artículo de su trabajo con la luz infrarroja y la luz ultravioleta. En 1919 el Dr. Wood publicó un artículo en Francia y señaló la posible utilización de la lámpara de Luz ultravioleta (UV) para el análisis de fluidos del cuerpo. Con el tiempo, esta fuente luz ha tomado la denominación de “lámpara de Wood”, o Luz negra. Bajo la acción de las radiaciones UV las manchas de semen presentan una fluorescencia blanco-amarillenta, aumentando la intensidad del tono amarillo con el paso del tiempo (Carma, 2010).

La lámpara de Bretton tiene un principio y uso similar a la lámpara de Wood, pero toma en cuenta la fluorescencia de fondo, por lo que el observador debe usar gafas con un filtro especial para eliminar la luz de fondo y dejar pasar la luz fluorescente proveniente sólo de la mancha de semen. La capacidad de blo-

“Técnicas Cristalográficas de Identificación”



queo de los filtros es directamente proporcional a la sensibilidad del sistema para detectar cantidades muy pequeñas de semen (Catherine, 2013).

En 1895 el francés Albert Florence fue el descubridor de una de las primeras técnicas para reconocer las huellas de líquido seminal, esto a través de la concentración de yodo alcalino, lo cual al ser observados por el microscopio se apreciaban cristales rómbicos de color marrón oscuro (Gómez, 2010).

El 8 de abril de 1905 el Dr. Miguel Barberio presentó una comunicación a la Real Academia de Ciencias Físicas y Matemáticas de Nápoles en la que describe una nueva prueba la cual considera sensible, segura y particular. En la cual consistía de tomar una gota fresca de esperma en un porta objetos y agregar una gota de una solución saturada de ácido pícrico, pasados unos segundos se observaría, a través de un microscopio, la formación de cristales de color amarillo turbio. El moco vaginal, moco nasal y saliva no dan positivo para la reacción (Gómez, 2010).

“En 1906 Cevidalli propuso que la prueba de Barberio se realizará agregando glicerina y alcohol al ácido pícrico, no obtuvo los cristales con semen de animales a lo que pensó que el principio activo que contenía el semen humano era el que generaba los cristales... En el año de 1907 Bokarius uso el ácido pícrico y lo agregó a una solución de ácido acético glacial para realizar la prueba que Barberio había realizado anteriormente. En ese mismo año Posner dijo que la prueba del Barberio era específica para el semen humano y que esta prueba podía ser negativa en presencia de espermatozoides” (Geffner, 2005).

El Dr. V. Majone, ayudante de laboratorio del profesor Conrado, estudió el comportamiento del esperma en presencia del trinitrocresol, este al igual que el ácido pícrico da lugar a la formación de cristales romboidales u ovoides, sin embargo, la sensibilidad del ácido pícrico era menor a las del trinitrocresol.

“En 1936 Puranen propuso una prueba micro química para el semen utilizando el ácido dinitronaftol-sulfónico como reactivo para la prueba, el cual al igual que el ácido pícrico reacciona con espermina pero éste da una formación de los cristales en color naranja característico”(Geffner, 2005).

En el año de 1949 Berg estudió esta reacción a profundidad ya que éste dedujo que esta prueba era específica para el semen, más no se aseguraba que éste era concreto para semen humano, toda vez que se requería realizar diversas pruebas en otros fluidos seminales para tener la certeza que el mismo era único para semen (Geffner, 2005).

“En 1957 Fiori notó que la espermina era capaz de separarse de la mancha seminal, mediante la cromatografía en papel, por lo que se propuso que la espermina podía ser extraída con cloroformo. Pero en 1961 Gültingen estudió a profundidad esta técnica y concluyó que era incierta” (Geffner, 2005).

En 1974 Djalalov publicó un procedimiento cromatográfico en papel en el cual se podía realizar la separación y detección de la espermina, colina, fosfatasa ácida y aminoácidos seminales (Geffner, 2005).

“En 1964 Griffiths y Lehman sugirieron utilizar los altos niveles de reatina fosfoquinasa en el semen como una base para identificarlo en manchas presentes. Éstos investigadores afirman que el semen contiene una concentración bastante alta de éstas sustancias, en comparación con cualquier otro fluido seminal” (Geffner, 2005).

En 1935 Kutscher y Wohlberg informaron que en la eyaculación masculina se encontraba una enzima

la cual hidrolizaba diversos esteres fosfato a un pH ácido. Realizaron diversos estudios de fosfatasa en orina, a lo que atribuyeron el origen de esta de la glándula prostática y a la enzima la llamaron FOSFATASA ÁCIDA, esto porque se encontró que en el semen esta sustancia estaba en una cantidad mayo a comparación de otras secreciones del cuerpo humano, por lo que se empelo como un método certero hasta la fecha. (Caro, 2007).

“No fue sino hasta 1941 que se confirmó el origen prostático de esta enzima y fue Gomori tras utilizar diversas técnicas de coloración histoquímicas... En 1945 Lundquist sugirió que existen elevadas cantidades de la fosfatasa ácida en el semen humano la cual podría utilizarse para la identificación de mismo en situaciones medico legales. Un año después se determinó que la fosfatasas ácida se presenta en muestras seminales, y también en otras secreciones corporales” (Geffner, 2005).

Otro estudio de suma importancia referente a la determinación de fosfatasa ácida en el semen lo realizó el Dr. Ove Riisfeldt en el año de 1946, ya que altos valores de fosfatasa ácida se encontraron en todas las eyaculaciones. El Dr. estaba convencido de que este método era específico del semen a pesar de que no podía concluir que si el resultado de la prueba daba negativo no podía concluir que no se trataba de semen. A lo que argumentó que si no se encontraba la enzima y además no se encontraban espermatozoides en la muestra se podía tener la certeza de que no se trataba de semen.

En 1964 Kind dijo que él no aseguraría la presencia de semen en una mancha basándose únicamente en la prueba de la fosfatasa ácida, ya que él consideraba necesario la realización de otra técnica para afirmar la presencia de semen en una mancha, como por ejemplo un test de Florence positivo, para dar una mayor certeza. (Geffner, 2005)

BIBLIOGRAFÍA

- Ambriz, M. F. (2002). Hematología Forense y otras tecnicas serologicas. Mexico: Porrua.
- Carma, I. C. (2010). Metodos de reconocimineto de manchas de semen. Mexico.
- Caro, P. M. (2007). manual de quimica forense . argentina: la roca.
- Catherine, C. (2013). Luz Azul o Lampara de Bretton para la detección de manchas de semen. Grupo de Investigaciones Forenses, 10.
- Contreras, M. E. (2006). Química Forense. Chile: La Roca.
- Echeverría, I. D. (2007). Descubrimiento de los Cromosomas Sexuales. Europa: Tavera S.L.
- Garriz, A. (1994). Química. Estado de México: Pearson Prentice Hall.
- Geffner, J. (2005). Serologia Forense, la Inmunologia y Bioquímica. Estados Unidos: A. S. Curry.
- Gómez, F. A. (2010). Estudio experimental de determinacion de cinc en manchas de semen. Universidad Autonoma de Mexico, 15.
- Gutiérrez Rios, E. (1985). Química. Barcelona: Reverte S.A.