

Uso de la microscopía electrónica en las ciencias forenses y en la medicina veterinaria

Méndez Bernal Adriana¹✉

¹Unidad de Microscopía Electrónica Aurora Velázquez, Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México

✉mvzadrimb@gmail.com

Datos del artículo

Cita: Méndez Bernal Adriana. 2024. Uso de la microscopía electrónica en las ciencias forenses y en la medicina veterinaria. Revista Digital de Ciencia Forense. 3(2): 46-52 pp.

Editor: Carlos Pedraza

Revisión por pares: dos revisores

Fecha de recibido: 9 de julio de 2024

Aceptado: 16 de octubre de 2024

Publicado: 31 de octubre 2024

Resumen

Las ciencias forenses se definen como un conjunto de disciplinas cuyo objetivo común es la materialización de las pruebas para efectos judiciales, que utiliza métodos derivados de las ciencias naturales para encontrar al presunto responsable de un acto criminal. El propósito de este trabajo es difundir brevemente algunas aplicaciones de la microscopía electrónica de transmisión, microscopía electrónica de barrido y microscopía de fuerza atómica, como técnicas de apoyo en las ciencias forenses, en las que se pueden obtener resultados casi instantáneos que determinen diversos agentes como gases explosivos, agentes biológicos, residuos de disparo de armas de fuego, líquidos corporales como sangre y semen. Asimismo, se pueden utilizar como herramienta adicional junto con otras pruebas convencionales, para diferenciar entre sangre humana y animal, en función de la morfología de su superficie, ya que esta se altera con su ruptura, en procesos oxidativos, intoxicación por furosemida, clorpromazin, iones de zinc, entre otros químicos. En medicina forense veterinaria se puede emplear en casos de caza furtiva de especies en peligro de extinción. Por otro lado, la microscopía de fuerza atómica puede ayudar a analizar los residuos de disparo de arma de fuego en el orificio de entrada en el cuerpo del animal. Lo anterior, crea una enorme oportunidad de crecimiento en el uso de diversos microscopios electrónicos, el aprendizaje en el manejo adecuado de las muestras, la capacitación de personal en dicha área, así como su empleo frecuente para sustentar y resolver casos en medicina forense humana y veterinaria.

Palabras clave: ciencias forenses, medicina veterinaria, microscopía electrónica.

Abstract

Forensic sciences are defined as a set of disciplines whose common objective is the materialization of evidence for judicial purposes utilizing methods derived from natural sciences to find an alleged perpetrator of a criminal act. The purpose of this study is to briefly present applications of electron microscopy, scanning electron microscopy and atomic force microscopy (AFM) as techniques useful in forensic science. These techniques can allow for a precise determination of various agents such as explosive gases, biological organisms, firearm residues and body fluids such as blood or semen. Likewise, these techniques can be used alongside conventional tests; for instance, to differentiate between human and animal blood based on the surface morphology, as rupture, oxidative processes, and toxicity due to furosemide, chlorpromazine, zinc ions and other chemicals can cause alterations. In forensic veterinary medicine, these techniques are applicable in cases regarding poaching of endangered species. Similarly, AFM can aid in the analysis of firearm residues in animal gunshot wounds. Undoubtedly, there is a great opportunity for growth and use of diverse electron microscopy techniques, as well as knowledge of sample management and technical training, to support and resolve cases in human and veterinary forensic medicine.

Key words: Forensic science, veterinary medicine, electron microscopy

Introducción

Las ciencias forenses se definen como un conjunto de disciplinas cuyo objetivo común es la materialización de las pruebas para efectos judiciales mediante una metodología científica, que utiliza técnicas y procesos derivados de las ciencias para deslindar responsabilidades y aportar pruebas en un tribunal. La nanotecnología forense aporta una nueva era de investigación en ciencias forenses, en la que se pueden producir resultados rápidamente que determinen la presencia de diversos agentes como gases explosivos, biológicos y sus técnicas de análisis. Existen varias técnicas de caracterización en nanotecnología y nanoanálisis, una de esas técnicas incluye el uso del microscopio electrónico de transmisión (TEM), microscopio electrónico de barrido (SEM) y microscopía de fuerza atómica (AMF) (1).

Breviario de microscopia electrónica

Para comprender la aplicación de la microscopía electrónica en las ciencias forenses, es necesario conocer un poco de cómo se inició ésta en el mundo. La microscopía electrónica surgió tras el descubrimiento de los rayos catódicos en 1897, nombre con el que se conocían inicialmente los electrones, posteriormente hubo numerosos descubrimientos empleando estas partículas elementales. En 1931, el físico alemán Ernst Ruska construyó el primer microscopio electrónico de transmisión; en 1986 fue galardonado con el Premio Nobel de Física por su aportación. Posteriormente, en 1937, Manfred von Ardenne construyó el microscopio electrónico de barrido (*Scanning Electron Microscope*, SEM) (2).

El SEM, por sus características de funcionamiento y el tipo de preparación de las muestras, tiene la capacidad de proporcionar información morfológica, topográfica, química, cristalográfica, eléctrica y magnética, además de contribuir en el estudio de materiales, polímeros, textiles, suelo, muestras biológicas en medicina humana, así como en medicina veterinaria. Con estas características el SEM se puede etiquetar como un método analítico útil en el campo de las ciencias forenses (2).

La prueba por SEM es uno de los exámenes básicos para obtener información primaria sobre muestras de origen desconocido (1, 2). En la mayoría de los casos forenses se ocupa para la determinación, descripción y comparación de prácticamente cualquier sustancia o material que pueda entrar en contacto con personas, animales u objetos. Generalmente pueden estudiarse tanto los materiales de origen natural como los producidos por las actividades humanas o animales que se puedan encontrar en el lugar de investigación. Con ello podemos obtener información relevante sobre los materiales examinados por estos instrumentos que son necesarios para tomar decisiones, para realizar un procedimiento analítico o para complementar directamente un examen.

Cada vez hay más aplicaciones especiales que permiten la creación de modelos y mediciones precisas en espacio 3D: estudios de materiales, reconstrucción de piezas fragmentadas, balística, examen de marcas de herramientas y defectoscopia (1-3).

El uso rutinario actual de la microscopía electrónica (empleando microanálisis), se aplica en el trabajo de casos de la siguiente manera:

- Muestras desconocidas.
- Residuos de disparos (GSR, por sus siglas en inglés) y distancia del disparo (ver figuras 1A y 1B).
- Explosivos y propulsores.
- Objetos mineralógicos, petrológicos y gemológicos (reliquias de minerales, piedras preciosas y sus imitaciones, etc.).

- Residuos post voladura (PBR, por sus siglas en inglés) y otras partículas termogénicas
- Cargas, aditivos de papel y plásticos.
- Pigmentos y sistemas de pintura, incluidas las capas de color de vehículos y obras de arte.
- Estructura morfológica de materiales textiles y sintéticos.
- Determinación de los tipos de daños a las fibras (fundición, fractura de fibra, desgarro, corte, etc.).
- Exámenes de expertos de materiales biológicos: material tricológico y sus daños, conchas de microorganismos para exámenes pedológicos, estadios inmaduros de artrópodos para establecer el intervalo *post mortem* y otras aplicaciones.
- Residuos de suelos
- Polen
- Vidrio
- Diatomeas
- Materiales de construcción.
- Fractura de materiales (determinación del carácter del área de fractura).
- Marcas de herramientas deslizadas (exámenes técnicos forenses, balística).

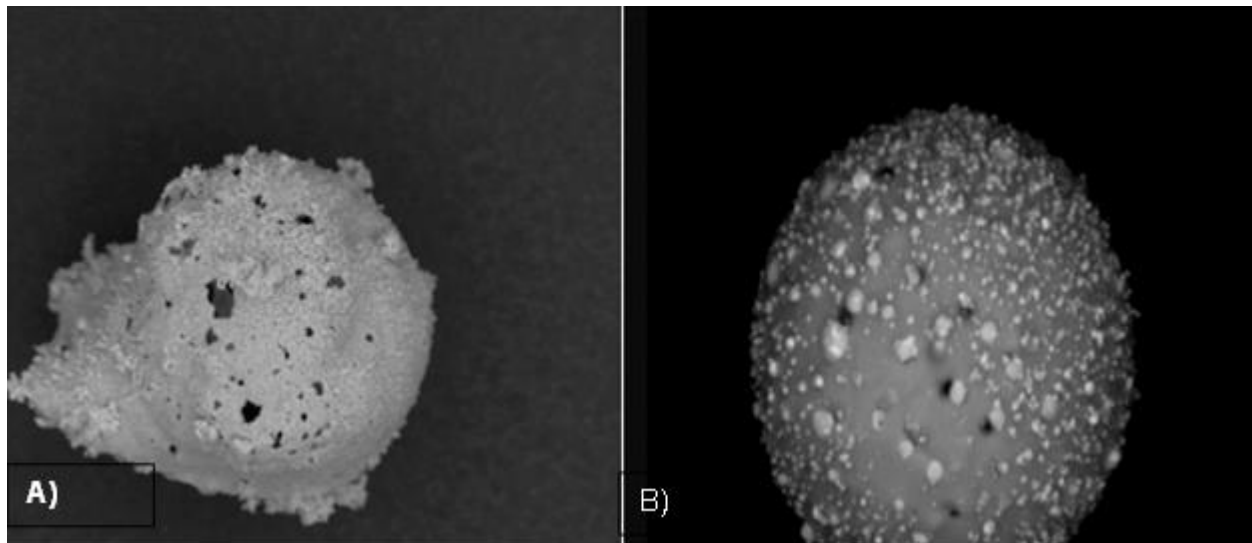


Figura 1. A) Micrografía de residuo de disparo de arma de fuego de 9 mm analizados con Phenom GSR Desktop. SEM. B) Micrografía de residuos de partículas de disparo que contienen plomo, antimonio y bario analizado con el equipo Phenom GSR Desktop SEM. Tomada de <https://www.thermofisher.com/mx/es/home/electron-microscopy/products/desktop-scanning-electron-microscopes/phenom-pharos.html?SID=srch-srp-PHENOM-PHAROS>

La microscopía electrónica de barrido se ha empleado en ciencias biológicas y medicina veterinaria para realizar las descripciones morfológicas de muestras de pelo de diversos animales y así determinar el origen de estos en un lugar de investigación (5). Por ejemplo, ha sido empleada en medicina veterinaria para analizar la microestructura y composición

elemental del pelo de ocho alpacas (*Vicugna pacos*), provenientes de diferentes partes de Polonia, empleando espectroscopía de rayos X de energía retrodispersa (SEM-EDX), analizando cuantitativamente los elementos nutricionalmente importantes (calcio y fósforo); elementos que forman parte de los componentes básicos de la estructura del pelo (silicio y azufre) y oligoelementos (cobre, zinc y selenio). Las imágenes obtenidas mostraron que la microestructura es irregular y áspera, además de que los resultados obtenidos mostraron el contenido de elementos en el pelo y su distribución en su estructura (Fig. 2) (5).

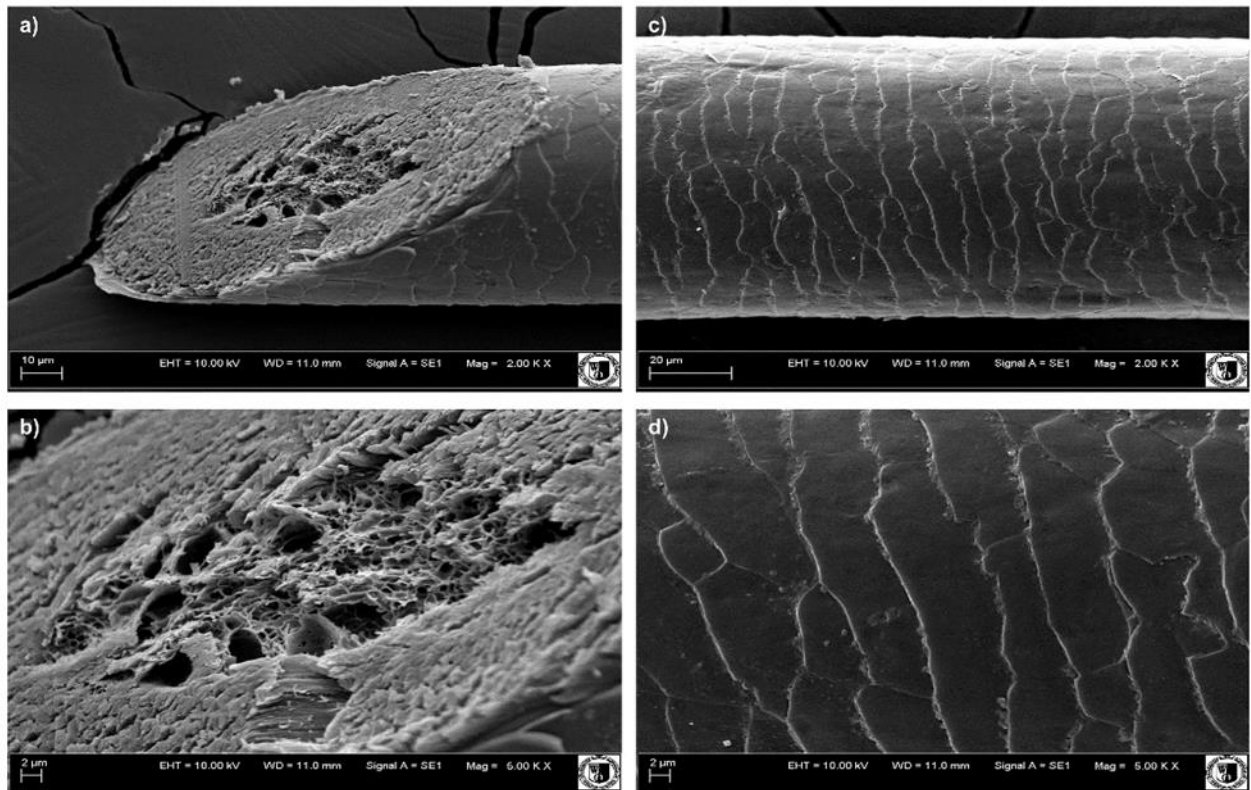


Figura 2. Micrografía de Microestructura del pelo de alpaca: (a, b) sección transversal (2000 ×, 5000 ×), (c, d) superficie (2000 ×, 5000 ×). Tomada de Aleksandra Mucha, 2018.

Un análisis forense con microscopía electrónica de barrido de una muestra de cabello o pelo tiene un valor crucial en una investigación criminal. El pelo puede ser transferido durante el contacto físico; su presencia se puede asociar a un sospechoso o a una víctima con hechos de interés forense, dando información relacionada incluso con el origen racial de la persona involucrada.

Breviario de *Atomic Force Microscopy*

En cuanto a la nanotecnología, se define como un campo que implica diseñar, crear, sintetizar y manipular materiales y sistemas mediante el control de la energía y la materia a escala nanométrica para diversas aplicaciones en diferentes campos. Como parte de la nanotecnología surgió el uso de la microscopía de fuerza atómica (*Atomic Force Microscopy*, AFM), que es un microscopio de alta resolución y resulta una técnica efectiva de análisis de diferentes nanomateriales. Este instrumento fue desarrollado por Binnig et al., en 1986, el cual provee

imágenes topográficas de cualquier tipo de material, sin ninguna preparación previa de la muestra, empleando una sonda con punta de tamaño nanométrico que explora toda la superficie (6, 7).

Las primeras aplicaciones de la microscopía de fuerza atómica en el campo de las ciencias forenses fueron realizadas por Valle et al., para identificar las características de las armas de fuego.(8) Posteriormente D'Uffizzi et al, usó la AMF para estudiar la micromecánica y las características de los residuos de disparo de armas de fuego depositados en las manos del tirador y en las armas mismas (7).

Asimismo, comparó imágenes realizadas por SEM y AFM observándose la redondez tridimensional exclusiva de estas partículas, además de detectar específicamente la presencia de diferentes elementos en la superficie de GRS y concluir que los elementos no siempre contribuyen a la creación de una superficie rugosa (7).

En los análisis biológicos, la sangre es un elemento común en diferentes casos judicializables, numerosas conclusiones pueden ser obtenidas apartir de manchas o salpicaduras de ésta. En ciencias forenses el análisis de las manchas de sangre es el mejor parámetro durante la investigación del crimen que van desde perfiles de ADN para confirmar la identidad de los perpetradores, hasta el análisis de patrones para la reconstrucción del crimen. Diversos métodos son empleados para determinar la edad de las manchas de sangre, algunos de ellos basados en la actividad enzimática y cambios de color de ésta, entre otros, que brindan información acerca del acto criminal. Mediante el uso del AFM se mide la elasticidad y la morfología de los eritrocitos, ya que éstos sufren varias modificaciones al salir del cuerpo humano y al depositarse en superficies como vidrio, cerámica y metal, muestran deformaciones en sus membranas (2, 6, 7).

Asimismo, la AFM sirve para la caracterización de varios materiales mediante el análisis de la morfología y características físicas. Los materiales como cabello, fluidos corporales como semen, las fibras de la ropa, los documentos y otros materiales similares, se consideran comúnmente muy importantes para el análisis forense como se muestra en la figura 3 (2, 6, 7).

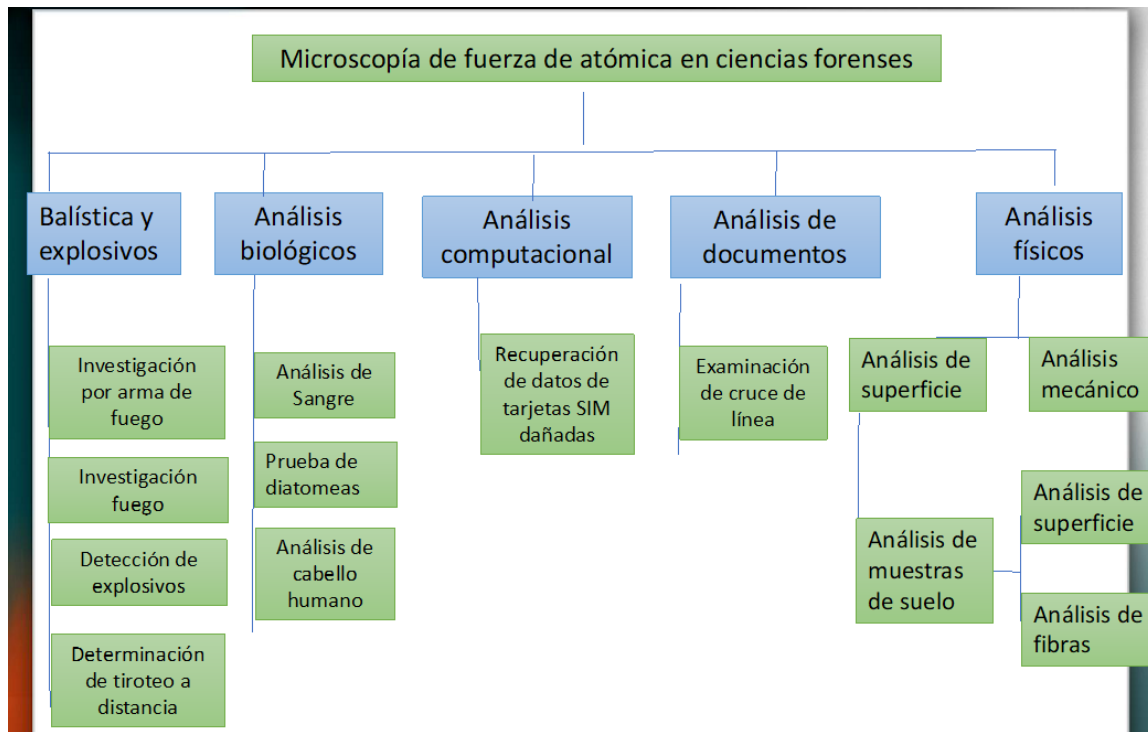


Figura 3. Microscopía de fuerza atómica en ciencias forenses. Adaptado de Pandey et al., (2017).

En la investigación forense ya se ha recomendado el uso de la AFM para la detección de huellas dactilares y el análisis de restos esqueléticos. En el futuro, se podrá utilizar como una herramienta adicional junto con pruebas convencionales para diferenciar entre sangre humana y animal en función de la morfología de superficie, ya que esta se altera con su ruptura, en procesos oxidativos, intoxicación por furosemida, clorpromazina, iones de zinc, entre otros químicos. En casos de caza furtiva de especies en peligro de extinción, los microscopios basados en AFM pueden ayudar a analizar los residuos de disparo de armas (GSR por sus siglas en inglés) que se encuentra en la herida de entrada en el cuerpo del animal (8-10).

En general, se puede decir que la AFM es y puede ser una herramienta potencial para investigar, caracterizar y distinguir evidencia a nivel de nanoescala, auxiliar en las investigaciones forenses.

Conclusiones

Las aplicaciones de la microscopía electrónica de transmisión, microscopía electrónica de barrido y de fuerza atómica constituyen técnicas de apoyo en las ciencias forenses y progresivamente se usa en la medicina forense. En México existen algunas instituciones donde se emplea la microscopía electrónica de barrido de alto vacío para el análisis de residuos de disparos de arma de fuego y análisis de otros materiales; sin embargo, es importante su difusión y su empleo en la medicina forense veterinaria en el país, así como la formación de personal en el área, pues es poco conocida tanto en la academia como en el quehacer forense.

Referencias

1. Saadat S, Pandey G, Tharmavaram M. Microscopy for forensic investigations. In: Rawtani D, Hussain CM, editors. *Technology in forensic science: Sampling, analysis, data and regulations*. 1st ed. Weinheim: Wiley-VCH GmbH; 2020. p. 103-127.
2. González MG, Noguez AE. *Principios de microscopía electrónica de barrido y microanálisis por rayos X*. 1st ed. Ciudad Universitaria: Facultad de Química, UNAM; ISBN 970-32-4011-9.
3. Kotrly M, Turkova I, Grunwaldová V. Forensic science scanning electron microscopy, and news field. *Microsc Microanal*. 2009;15(Suppl 2):730-731. doi:10.1017/S1431927609096032.
4. Binnig G, Quate CF, Gerbe C. Atomic force microscope. *Phys Rev Lett*. 1986;56(9):930-933.
5. Mucha A, et al. Morphological and elemental analysis of alpaca hair using scanning electron microscopy with energy-dispersive X-ray spectroscopy (SEM-EDX). *Med Weter*. 2018;74(5):295-300. doi:10.21521/mw.6046.
6. Thermo Fisher Scientific. Desktop SEM | Phenom Pharos FEG-SEM | Thermo Fisher Scientific - IE. Available from: <https://www.thermofisher.com/mx/es/home/electron-microscopy/products/desktop-scanning-electron-microscopes/phenom-pharos.html?SID=srch-srp-PHENOM-PHAROS>.
7. Krüsemann H. SEMs and forensic science. *Probl Forensic Sci*. 2011;47:110-112.
8. Valle F, Bianchi M, Tortorella S, Pierini G, Biscarini F, D'Elia M. Nanotechnology for forensic sciences: Analysis of PDMS replica of the case head of spent cartridges by optical microscopy, SEM and AFM for the ballistic identification of individual characteristic features of firearms. *Forensic Sci Int*. 2012;222:288-297.
9. Saadat S, Pandey G, Tharmavaram M, Rawtani D, Kumar S, Agrawal Y. Multifarious applications of atomic force microscopy in forensic science investigations. *Forensic Sci Int*. 2017;273:53-63. doi:10.1016/j.forsciint.2017.01.030.
10. Cengiz S, Karaca AC, Çakır İ, Üner HB, Sevindik A. SEM-EDS analysis and discrimination of forensic soil. *Forensic Sci Int*. 2004;141(1):33-37.
11. Pandey G, Tharmavaram M, Rawtani D, et al. Multifarious applications of atomic force microscopy in forensic science. *Forensic Sci Int*. 2017;273:53-63.