

# Universidad del Aconcagua



## Facultad de Psicología



# Universidad del Aconcagua

## Facultad de Psicología

---

**TESINA DE LICENCIATURA EN CRIMINALÍSTICA**

### **TÍTULO DE LA TESINA**

**“COMPORTAMIENTO DE DOS KITS COMERCIALES  
INMUNOCROMATOGRÁFICOS PARA DETECCIÓN DE SANGRE HUMANA”**

### **TEMA DE INVESTIGACIÓN**

**“DETERMINACIÓN POR MEDIO DE DOS KITS INMUNOCROMATOGRÁFICOS EN  
MANCHAS DE TEJIDO HEMÁTICO HUMANO CON CONTAMINACIONES  
FORENSES MÁS FRECUENTES”**

**TESISTA:** PATRICIA NOEMI CATALDO CALESSO

**DIRECTORA:** DOCTORA LILIANA ZEA

**AÑO:** 2013

PROVINCIA DE MENDOZA – REPÚBLICA ARGENTINA

## HOJA DE EVALUCACIÓN

TRIBUNAL:

PRESIDENTE:

VOCAL:

VOCAL:

Profesores Invitados:

## RESUMEN

### “COMPORTAMIENTO DE DOS KITS COMERCIALES INMUNOCROMATOGRÁFICOS PARA DETECCIÓN DE SANGRE HUMANA”

por Patricia Noemí Cataldo Calessio

La presencia de sangre en un hecho delictivo es una de las evidencias más frecuentes, en la mayoría de los casos une al sospechoso y/o a la víctima en la escena en cuestión. Esta investigación pretende demostrar cuál de los kits inmunocromatográficos estudiados: “Hem – Check -1 de la firma comercial Veda Lab o Acon de la firma comercial Acon Biotech” sería adecuado a utilizar teniendo en cuenta las contaminaciones forenses más frecuentes.

Los ensayos inmunocromatográficos empleados en este trabajo; específicos para establecer la presencia de sangre oculta son los de uso frecuente en la actualidad en el Laboratorio de Química Legal del Departamento de Policía Científica de la Provincia de Mendoza Argentina.

Las manchas a analizar fueron realizadas sobre fragmentos de tela de mezclilla. A estos soportes se les colocó tejido hemático humano y posteriormente fueron contaminados con sustancias que habitualmente se encuentran dentro de una investigación forense, tales como, reactivo quimioluminiscente (Bluestar Forensic Free), polvo revelador de rastros papilares (Polvo Negro), solución desinfectante (Povidona yodo), restos terrosos y restos de óxidos (herrumbre).

El procesamiento de estas muestras hemáticas contaminadas fue realizado de dos modos diferentes; uno de forma directa, tomando el trozo de tela y otro de manera indirecta, pasando un hisopo embebido en solución fisiológica sobre la muestra, siendo trabajadas con distintos tiempos de extracción en los buffers, con la finalidad de poder analizar si influían alguna de las variables en los resultados obtenidos.

## ABSTRACT

### "BEHAVIOR OF TWO COMMERCIAL KITS IMMUNOCHROMATOGRAPHIC FOR DETECTION OF HUMAN BLOOD"

by Patricia Noemí Cataldo Calessio

The presence of blood in a criminal act is one of the evidences more frequent, in the majority of cases the suspect or the victim joins the scene in question. This research aims to demonstrate which of the studied immunochromatographic kits: "Hem - Check - 1 of the commercial firm Veda Lab or commercial firm Acon-Acon Biotech" would be appropriate to use taking into account most common forensic contaminations.

The tests used in this work immunochromatographic; specific to establish the presence of occult blood are often used nowadays in the laboratory of chemical Legal of Department of scientific police of the province of Mendoza Argentina.

To analyze stains were performed on fragments of denim fabric. These brackets placed them woven human blood and were subsequently contaminated with substances that are usually found within a forensic investigation, such as enhanced chemiluminescent reagent (Bluestar Forensic Free), developer powder of papillary traces (black powder), disinfectant solution (povidone iodine), earthy remains and remains of oxides (rust).

The processing of these contaminated blood samples was carried out in two different ways; one direct, taking the piece of fabric and another indirectly, through a cotton swab soaked in saline over the sample, being worked with different times of extraction in the buffers in order to analyze if influenced any of the variables in the results obtained.

## ÍNDICE

<b>TESINA DE LICENCIATURA EN CRIMINALÍSTICA.....</b>	<b>1</b>
<b>TEMA DE INVESTIGACIÓN.....</b>	<b>2</b>
<b>HOJA DE EVALUACIÓN .....</b>	<b>3</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>4</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>5</b>
<b>ÍNDICE.....</b>	<b>6</b>
<b>AGRADECIMIENTOS .....</b>	<b>16</b>
<b>DEDICATORIA .....</b>	<b>17</b>
<b>CAPITULO I .....</b>	<b>18</b>
.....	
.....	<b>INTRODUCCIÓN 19</b>
<b>CAPITULO II.....</b>	<b>21</b>
.....	
.....	<b>PROBLEMATICA 22</b>
<b>CAPITULO III .....</b>	<b>23</b>
.....	
.....	<b>ANTECEDENTES 24</b>
<b>CAPITULO IV.....</b>	<b>28</b>
.....	
.....	<b>MARCO TEORICO 29</b>
.....	
.....	<b>PARTE I 29</b>
.....	
.....	<b>SANGRE 29</b>
.....	
.....	<b>Función</b>



.....

Dia

.....

Dia

.....

Dia

..... **PARTE II 40**

..... **QUÍMICA LEGAL O FORENSE 40**

..... **Diagnóstico**

..... Est

..... Est

..... Té

.....

- .....M

    étodo del tubo de ensayo ..... 42

- .....M

    étodo en capilares ..... 42

- .....M

    étodo electroforético ..... 43

..... Dia

..... Introducción a los inmunoensayos 43

- .....D

    irectos ..... 44

- .....I

    ndirectos ..... 44

    • .....S

        egún el tipo de marcador ..... 45

            ○ .....R

                adioinmunoensayos ..... 45

            ○ .....F

                luoroimunoensayos ..... 45

            ○ .....E

                nzimoinmunoensayos ..... 45

                    ▪ .....Q

                        uimioinmunoensayos ..... 45

    • .....S

        egún el método de separación ..... 45



.....SOPORTE 60

..... Textil 60

..... ¿C

..... Co

**CAPITULO V ..... 65**

..... OBJETIVOS DE TRABAJO 66

..... HIPÓTESIS DE TRABAJO 68

..... Va

**CAPITULO VI..... 69**

..... METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN 70

..... PROCEDIMIENTO 71

1. .... B

    luestar forensic free ..... 74

2. .... P

    olvo negro ..... 76

3. .... P

    ovidona iodo..... 76

4. .... R

    estos terrosos ..... 77

5. .... H

    errumbre..... 77

..... VI- Contro

➤ ..... K

    it Hem – Check-1 ..... 78

➤ ..... K

    it Acon..... 79

..... VII- Deter

..... VIII- Dete

..... IX- Deter

..... X- Determ

.....INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS 84

○ ..... P

    arámetros evaluados..... 84

**CAPITULO VII..... 87**

..... DISCUSIÓN DE RESULTADOS 88

..... **R**

**Resultados obtenidos con ambos ensayos inmunocromatográficos ..... 88**

- ..... **M**
- muestras analizadas con ensayo inmunocromatográfico Hem – Check-1..... 88
- ..... **M**
- muestras analizadas con ensayo inmunocromatográfico Acon ..... 90

..... **I**

**Interpretación de resultados obtenidos por modo de procesamientos y tiempos de extracción en buffer para cada muestra y contaminante ..... 92**

- ..... **E**
- ensayo inmunocromatográfico Hem – Check-1: Muestra: Tejido hemático + Contaminante: Bluestar forensic free..... 92
- ..... **E**
- ensayo inmunocromatográfico Acon: Muestra: Tejido hemático + Contaminante: Bluestar forensic free ..... 93
- ..... **E**
- ensayo inmunocromatográfico Hem – Check-1: Muestra: Tejido hemático + Contaminante: Polvo negro..... 93
- ..... **E**
- ensayo inmunocromatográfico Acon: Muestra: Tejido hemático + Contaminante: Polvo negro94
- ..... **E**
- ensayo inmunocromatográfico Hem – Check-1: Muestra: Tejido hemático + Contaminante: Povidona iodo ..... 94
- ..... **E**
- ensayo inmunocromatográfico Acon: Muestra: Tejido hemático + Contaminante: Povidona iodo ..... 95
- ..... **E**
- ensayo inmunocromatográfico Hem – Check-1: Muestra: Tejido hemático + Contaminante: Restos terrosos..... 96
- ..... **E**
- ensayo inmunocromatográfico Acon: Muestra: Tejido hemático + Contaminante: Restos terrosos ..... 96
- ..... **E**
- ensayo inmunocromatográfico Hem – Check-1: Muestra: Tejido hemático + Contaminante: Herrumbre..... 97
- ..... **E**
- ensayo inmunocromatográfico Acon: Muestra: Tejido hemático + Contaminante: Herrumbre 97

..... **C**

**Contraste entre los resultados obtenidos de las muestras procesadas con ambos ensayos inmunocromatográficos de acuerdo al contaminante empleado..... 98**


- ..... **M**
- Muestra: Tejido hemático + Contaminante: Bluestar forensic ..... 98

○ .....M  
uestra: Tejido hemático + Contaminante: Polvo negro ..... 99  
○ .....M  
uestra: Tejido hemático + Contaminante: Povidona iodo ..... 99  
○ .....M  
uestra: Tejido hemático + Contaminante: Restos terrosos ..... 100  
○ .....M  
uestra: Tejido hemático + Contaminante: Herrumbre ..... 101


**CAPITULO VIII ..... 102**  
..... **CONCLUSIÓN 103**  
..... **RECOMENDACIONES 105**

**APÉNDICE ..... 106**  
..... **ANEXO I 107**

1).....D  
eterminación de especie humana kit Hem – Check-1 (Fragmento de tela de mezclilla colocado  
directamente en buffer proveniente en el kit) ..... 107

 .....P  
**rocesamiento de las muestras contaminadas..... 107**

○ .....I  
lustración muestras contaminadas con Bluestar Forensic Free ..... 107  
- .....P  
rocesada 10 minutos..... 107  
- .....P  
rocesada 30 minutos..... 107  
- .....P  
rocesada 60 minutos..... 107  
- .....P  
rocesada 90 minutos..... 107  
○ .....I  
lustración muestras contaminadas con Polvo Negro ..... 108  
- .....P  
rocesada 10 minutos..... 108  
- .....P  
rocesada 30 minutos..... 108  
- .....P  
rocesada 60 minutos..... 108  
- .....P  
rocesada 90 minutos..... 108  
○ .....I  
lustración muestras contaminadas con Povidona Iodo ..... 108

- .....P  
rocesada 10 minutos..... 108
- .....P  
rocesada 30 minutos..... 108
- .....P  
rocesada 60 minutos..... 109
- .....P  
rocesada 90 minutos..... 109
- .....I  
lustración muestras contaminadas con Restos Terrosos ..... 109
- .....P  
rocesada 10 minutos..... 109
- .....P  
rocesada 30 minutos..... 109
- .....P  
rocesada 60 minutos..... 109
- .....P  
rocesada 90 minutos..... 109
- .....I  
lustración muestras contaminadas con Herrumbre ..... 110
- .....P  
rocesada 10 minutos..... 110
- .....P  
rocesada 30 minutos..... 110
- .....P  
rocesada 60 minutos..... 110
- .....P  
rocesada 90 minutos..... 110
- 2).....D  
eterminación de especie humana kit Acon (Fragmento de tela de mezclilla colocado  
directamente en buffer proveniente en el kit) ..... 110
-  .....P  
**rocesamiento de las muestras contaminadas..... 110**
- .....I  
lustración muestras contaminadas con Bluestar Forensic Free ..... 110
- .....P  
rocesada 10 minutos..... 110
- .....P  
rocesada 30 minutos..... 110
- .....P  
rocesada 60 minutos..... 111
- .....P  
rocesada 90 minutos..... 111

- ..... I  
lustración muestras contaminadas con Polvo Negro ..... 111
  - ..... P  
rocesada 10 minutos ..... 111
  - ..... P  
rocesada 30 minutos ..... 111
  - ..... P  
rocesada 60 minutos ..... 111
  - ..... P  
rocesada 90 minutos ..... 111
- ..... I  
lustración muestras contaminadas con Povidona Iodo ..... 112
  - ..... P  
rocesada 10 minutos ..... 112
  - ..... P  
rocesada 30 minutos ..... 112
  - ..... P  
rocesada 60 minutos ..... 112
  - ..... P  
rocesada 90 minutos ..... 112
- ..... I  
lustración muestras contaminadas con Restos Terrosos ..... 112
  - ..... P  
rocesada 10 minutos ..... 112
  - ..... P  
rocesada 30 minutos ..... 112
  - ..... P  
rocesada 60 minutos ..... 113
  - ..... P  
rocesada 90 minutos ..... 113
- ..... I  
lustración muestras contaminadas con Herrumbre ..... 113
  - ..... P  
rocesada 10 minutos ..... 113
  - ..... P  
rocesada 30 minutos ..... 113
  - ..... P  
rocesada 60 minutos ..... 113
  - ..... P  
rocesada 90 minutos ..... 113

**3)..... D**  
eterminación de especie humana kit Hem – Check-1 (Muestra pasada del fragmento de tela de

mezclilla a hisopo embebido en solución fisiológica y colocada posteriormente en buffer proveniente en el kit)..... 114

.....P

**rocesamiento de las muestras contaminadas..... 114**

○ .....I

lustración muestras contaminadas con Bluestar Forensic Free ..... 114

- .....P

rocesada 10 minutos..... 114

- .....P

rocesada 30 minutos..... 114

- .....P

rocesada 60 minutos..... 115

- .....P

rocesada 90 minutos..... 115

○ .....I

lustración muestras contaminadas con Polvo Negro ..... 115

- .....P

rocesada 10 minutos..... 115

- .....P

rocesada 30 minutos..... 115

- .....P

rocesada 60 minutos..... 115

- .....P

rocesada 90 minutos..... 115

○ .....I

lustración muestras contaminadas con Povidona Iodo ..... 116

- .....P

rocesada 10 minutos..... 116

- .....P

rocesada 30 minutos..... 116

- .....P

rocesada 60 minutos..... 116

- .....P

rocesada 90 minutos..... 116

○ .....I

lustración muestras contaminadas con Restos Terrosos ..... 116

- .....P

rocesada 10 minutos..... 116

- .....P


rocesada 30 minutos..... 116

- .....P

rocesada 60 minutos..... 117

- .....P

rocesada 90 minutos..... 117

- ..... I  
lustración muestras contaminadas con Herrumbre ..... 117
- ..... P  
rocesada 10 minutos ..... 117
- ..... P  
rocesada 30 minutos ..... 117
- ..... P  
rocesada 60 minutos ..... 117
- ..... P  
rocesada 90 minutos ..... 117
  
- 4)..... D**  
eterminación de especie humana kit Acon (Muestra pasada del fragmento de tela de mezclilla  
a hisopo embebido en solución fisiológica y colocada posteriormente en buffer proveniente en  
el kit)..... 118
-  ..... P  
**rocesamiento de las muestras contaminadas..... 118**
- ..... I  
lustración muestras contaminadas con Bluestar Forensic Free ..... 118
- ..... P  
rocesada 10 minutos ..... 118
- ..... P  
rocesada 30 minutos ..... 118
- ..... P  
rocesada 60 minutos ..... 119
- ..... P  
rocesada 90 minutos ..... 119
- ..... I  
lustración muestras contaminadas con Polvo Negro ..... 119
- ..... P  
rocesada 10 minutos ..... 119
- ..... P  
rocesada 30 minutos ..... 119
- ..... P  
rocesada 60 minutos ..... 119
- ..... P  
rocesada 90 minutos ..... 119
- ..... I  
lustración muestras contaminadas con Povidona Iodo ..... 120
- ..... P  
rocesada 10 minutos ..... 120
- ..... P  
rocesada 30 minutos ..... 120

- ..... P  
rocesada 60 minutos..... 120
- ..... P  
rocesada 90 minutos..... 120
- ..... I  
lustración muestras contaminadas con Restos Terrosos ..... 120
- ..... P  
rocesada 10 minutos..... 120
- ..... P  
rocesada 30 minutos..... 120
- ..... P  
rocesada 60 minutos..... 121
- ..... P  
rocesada 90 minutos..... 121
- ..... I  
lustración muestras contaminadas con Herrumbre ..... 121
- ..... P  
rocesada 10 minutos..... 121
- ..... P  
rocesada 30 minutos..... 121
- ..... P  
rocesada 60 minutos..... 121
- ..... P  
rocesada 90 minutos..... 121

..... **ANEXO II 122**

- ..... **R**  
**resultados obtenidos con ambos ensayos inmunocromatográficos..... 122**
- ..... T  
tabla de muestras analizadas con ensayo inmunocromatográfico Hem – Check-1 ..... 122
- ..... T  
tabla de muestras analizadas con ensayo inmunocromatográfico Acon..... 126

..... **ANEXO III 130**

- ..... **I**  
**interpretación de resultados obtenidos por modo de procesamientos y tiempos de extracción en buffer para cada muestra y contaminante ..... 130**
- ..... T  
tabla muestras procesadas con kit Hem – Check-1 para muestra + contaminante Bluestar Forensic Free ..... 130
- ..... T  
tabla muestras procesadas con kit Acon para muestra + contaminante Bluestar Forensic Free 130
- ..... T  
tabla muestras procesadas con kit Hem – Check-1 para muestra + contaminante Polvo Negro 131

- ..... T
- abla muestras procesadas con kit Acon para muestra + contaminante Polvo Negro ..... 131
- ..... T
- abla muestras procesadas con kit Hem – Check-1 para muestra + contaminante Povidona Iodo 131
- ..... T
- abla muestras procesadas con kit Acon para muestra + contaminante Povidona Iodo ..... 132
- ..... T
- abla muestras procesadas con kit Hem – Check-1 para muestra + contaminante Restos Terrosos ..... 132
- ..... T
- abla muestras procesadas con kit Acon para muestra + contaminante Restos Terrosos ..... 132
- ..... T
- abla muestras procesadas con kit Hem – Check-1 para muestra + contaminante Herrumbre 133
- ..... T
- abla muestras procesadas con kit Acon para muestra + contaminante Herrumbre ..... 133

..... **ANEXO IV 134**

- ..... **C**

**ontraste entre los resultados obtenidos de las muestras procesadas con ambos ensayos inmunocromatográficos de acuerdo al contaminante empleado..... 134**

- ..... T
- abla Muestra: Tejido hemático + contaminante Bluestar Forensic ..... 134
- ..... T
- abla Muestra: Tejido hemático + contaminante Polvo Negro..... 135
- ..... T
- abla Muestra: Tejido hemático + contaminante Povidona Iodo..... 136
- ..... T
- abla Muestra: Tejido hemático + contaminante Restos Terrosos ..... 137
- ..... T
- abla Muestra: Tejido hemático + contaminante Herrumbre..... 138

**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS ..... 139**

**ABREVIATURAS EMPLEADAS ..... 143**

## AGRADECIMIENTOS

- A Dios.
- A mis padres, que desde el cielo me iluminan y dan las fuerzas necesarias para seguir adelante, para no bajar los brazos y cumplir mis metas.
- A mis hijas, que me regalaron parte de su infancia, para que yo le dedicara tiempo al estudio.
- A mi esposo, por ser el apoyo y sostén de mi vida, en este último trayecto, para concretar este y muchos sueños más.
- A mi Directora de Tesina, Dra. Liliana Zea, por su apoyo incondicional.
- A mis compañeros de trabajo en el Laboratorio de Química Legal del Departamento de Policía Científica; Juan Merino, Marcos González, Elisa y Mirtha Calderón, por su enorme colaboración.

## **DEDICATORIA**

- Este trabajo está dedicado en especial a toda mi familia, mi esposo Federico, mis hijas Tania y Mayra, mis hijos del corazón Enzo y Pilar y a mi bebé aún en la pancita, Ramiro.
- Está dedicado a mi mamá, ejemplo de vida y mujer.
- Al personal de Policía Científica de la Provincia de Mendoza, por su gran desempeño cotidiano.



# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

La presencia de sangre en un hecho criminal es una de las evidencias más común, conocida y contundente; en la mayoría de los casos une al sospechoso o a la víctima a la escena en cuestión. Para establecer su presencia esta investigación pretende demostrar cuál de los kits comerciales estudiados Hem – Check-1 (VedaLab) o Acon (Acon Biotech SRL) sería adecuado utilizar teniendo en cuenta las contaminaciones forenses más frecuentes.

Se utilizara una investigación experimental correlacional, la cual será debidamente documentada y estudiada con la finalidad de tratar de establecer para un caso supuesto de una mancha hemática contaminada la prueba comercial inmunocromatográfica más adecuada para la detección de tejido hemático humano; con un ejemplar tomado dependiendo de la sustancia contaminante en tela de mezclilla (jeans); el cual es manchado con sangre humana y contaminado con reactivo quimioluminiscente (Bluestar Forensic Free), polvo negro de huellas papilares (Polvo Negro), solución desinfectante (Povidona Iodo), restos terrosos y

herrumbre, analizándolos bajo diferentes parámetros de tiempos de extracción y formas de obtención de las muestras.

A través de los resultados obtenidos del análisis de los datos adquiridos sobre el desempeño de los dos kits comerciales, se pretende determinar cuál es más adecuado ante las contaminaciones forenses estudiadas.

Hasta el momento no se hay documentado de forma fehaciente cual es la capacidad de reacción de los kits en cuestión que habitualmente se utilizan en el Laboratorio de Química Legal de Policía Científica lo cual hace totalmente arbitrario el uso y adquisición de los mismo, en este caso puntual de contaminación de las muestras.

Este trabajo de investigación tiene como finalidad establecer cuál de las pruebas inmunocromatográficas para la presencia de sangre oculta humana es más adecuada emplear, en muestras con contaminaciones forenses frecuentes.

Por lo tanto, teniendo en cuenta que el fin con el que fueron realizados los kits es para la detección cualitativa de sangre humana oculta en materia fecal, es necesario conocer cómo reacciona ante muestras forenses contaminadas con diferentes sustancias, pudiendo así establecerse el uso más adecuado, para arribar a un resultado favorable y confiable para la investigación llevada a cabo.



# CAPÍTULO II

## **PROBLEMÁTICA**

Los kits comerciales inmunocromatográficos para la presencia de sangre oculta fecal de las marcas Hem – Check -1 de VedaLab y Acon de AconBiotech SRL son sensibles y específicos, pero no se sabe cómo reaccionan ante contaminaciones forenses más frecuentes, como: reactivo bluestar forensic free, polvo negro revelador, solución povidona yodo, restos terrosos y herrumbre.

Es por eso que nos preguntamos, ¿cuál de los kits comerciales estudiados será más eficaz ante muestras de tejido hemático sometidas a las contaminaciones frecuentes en el ámbito criminalístico?



# CAPÍTULO III

## ANTECEDENTES

De la lectura de la bibliografía disponible sobre el tema que se trata en la presente investigación, se pueden mencionar como antecedentes entre otros y a modo de introducción lo mencionado por la Dra. Ana Castelló Ponce<sup>1</sup>, en su libro “Manual de Química Forense” donde pone de manifiesto que desde hace algunos años se puede establecer el diagnóstico de certeza y especificidad de hemoglobina humana fácilmente por medio del uso de kits comerciales en un solo paso. Adaptando a la investigación forense un procedimiento que se lleva a cabo en los análisis clínicos; destinados en esta ocasión a detectar la presencia de sangre oculta en heces.

Por otro lado la Dra. Castelló Ponce en el capítulo V, Vestigios Biológicos: Manchas de sangre del libro coordinado por el Dr. Fernando Verdú Pascual<sup>2</sup> “Del Indicio a la Evidencia” expone que el diagnóstico de hemoglobina humana por medio de kits, comúnmente utilizados en clínica; sobre muestras controladas, para ser utilizado con muestras de interés criminalístico, debe realizarse sobre este un estudio previo para validarlo en el ámbito forense.

Castelló en el libro antes citado menciona además que estos kits han sido objeto de estudio de los investigadores arribándose a algunas conclusiones:

Por ejemplo Hochmeister y colaboradores publicaron en 1991 un trabajo en el que se evaluaba la efectividad de algunos de los test comerciales (concretamente el One Step ABACard® Hema Trace®) en la identificación forense de sangre humana.

En sus conclusiones indicaban que aunque en general son válidos para el análisis de muestras forenses, puede haber casos en los que por las malas

---

<sup>1</sup> Ana Castelló Ponce (2009) “Manual de Química Forense”. Editorial: Comares Pág. 180 – 181.

<sup>2</sup> Fernando A. Verdú Pascual (Coord.) (2006) “Del Indicio a la Evidencia”. Editorial: Comares Pág. 84- 85.

condiciones de la muestra (por ejemplo cuando está muy contaminada por suciedad) o por tratamientos que se le pueden haber aplicado (concretamente por secado en secadora) no se obtiene buenos resultados.

Así mismo, otros investigadores han descrito la posibilidad de obtener falsos positivos con semen y saliva. Para uno de los kits más utilizado, el HemaTrace, se ha comprobado que da resultados positivos para saliva y semen hasta una concentración de 1/100. Para muestras más diluidas no se observa este resultado.

La conclusión que se extrae en todos estos datos es que, como es habitual en las muestras forenses, la efectividad de la prueba dependerá del estado de la muestra, su antigüedad y grado de contaminación, etc. Pero en cualquier caso el uso de los kits es una alternativa sencilla y bastante efectiva para determinar la presencia de Hemoglobina humana. Como siempre se debe tener en cuenta que un resultado negativo no debe ser excluyente puesto que puede atribuirse a malas condiciones de la muestra (Verdú Op. Cit).

Siguiendo con la documentación hallada en medios digitales, cabe mencionar un informe como el citado por la Dra. Castelló en el Libro Del Indicio a la evidencia del Dr. Hochmeister y colaboradores el cual data del año 1999 donde se expone: “Validation Studies of an Immunochromatographic 1-Step Test for the Forensic Identification of Human Blood”; un estudio de validación de una prueba inmunocromatográfica de un paso para la identificación forense de sangre humana, presentado de la 50ª Reunión anual, Academia Americana de Ciencias Forenses de San Francisco E.E.U.U.

En este se presenta la validación del kit Hexagon Obti de la firma comercial Human de la prueba rápida, de un paso para la detección de sangre oculta en materia fecal, que fue evaluada para la aplicabilidad en el ámbito forense, permitiendo presumir que una mancha de sangre es de origen humano, ayudando al investigador a decidirse a recoger o no una muestra como evidencia.

Demostrando ser una herramienta potente como prueba de confirmación para la sangre humana. Se debe tener en cuenta ciertas consideraciones particulares de la misma como por

ejemplo, que es un ensayo del tipo primate específico, útil tanto en el análisis de muestras de vieja data como muestras degradadas. El antígeno que compone el cassette es insensible a una variedad de agresiones ambientales a excepción de la exposición a ciertos detergentes y legías de uso en el hogar como así también a la exposición prolongada a ciertas preparaciones de luminol. Aplicable tanto para pruebas de campo como de laboratorio.

Existe otro antecedente relacionado al tema de investigación realizado por los doctores Brett A. Schweers, Jennifer Old, P.W. Boonlayangoor y Karl Reich de la firma comercial Independent Forensics, en la localidad de Hillside Illinois en Estados Unidos sobre una prueba rápida para la identificación de manchas de sangre por medio del empleo del kit RSID™- Sangre (Rapid Stain IDentification); donde publican un trabajo de investigación bajo el nombre “Developmental Validation of a Novel Lateral Flow Strip Test for Rapid Identification of Human Blood, Rapid Stain IDentification Blood, RSID™- Blood” en el mismo se evalúan diferentes parámetros de la prueba inmunocromatográfica como son la sensibilidad y especificidad.

En este se menciona que a diferencia de otras pruebas como lo son los métodos presuntivos de la presencia de sangre, donde existen una variedad de sustancias comunes que pueden causar manchas de color rojo – marrón que se asemejan a manchas hemáticas o por el empleo de métodos orientativos como lo son la prueba de fenolftaleína reducida o la prueba de o- tolidina; (pruebas que toman como marcador para reaccionar, a las peroxidasas), pueden dar resultados falsos positivos. Inclusive otros inmunoensayos de hemoglobina humana que pueden causar una reacción cruzada con sangre de distintos animales (hurón, zorrillo o primate) o con otros fluidos corporales (orina, saliva, semen, fluido vaginal, etc.) y propensos a dar resultados falsos negativos debido al efecto llamado "High Dose Hook" (efecto producido por altas concentraciones de analito).

La prueba RSID™ – Sangre mencionada en el estudio fue diseñada y concebida por un Laboratorio Forense de ADN acreditado, siendo la misma específica para sangre humana y tan sensible que un resultado positivo de la misma generalmente implicara que es material biológico suficiente para un estudio de ADN.

Dos puntos relevantes o de mención significativa tiene este ensayo RSID™ – Sangre: uno es que toma como marcador a la glicoforina A (proteína específica de la membrana de los

glóbulos rojos) y el otro es que se ha observado que la presencia de detergentes comerciales en los extractos de las manchas pueden interferir en la intensidad de la detección de sangre pero no producir un resultado falso negativo.

También se puede reconocer como antecedente un trabajo de grado, realizado por Eliana Delgado Peña y Victoria Ballén Torres alumnas de la Pontificia Universidad Javeriana de Colombia, realizado en el año 2006, denominado “Validación de una técnica inmunocromatográfica para la detección de sangre humana en manchas de interés forense en el laboratorio de Biología del Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses – Regional, Bogotá empleando el Kit Rapidsignal Occult Blood – Cassette, de la firma Orgenics”, en el desarrollo del trabajo se demostró experimentalmente que la sensibilidad y especificidad del inmunoensayo es adecuado para ser incorporado en el laboratorio de Biología del Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses - Regional Bogotá.

De las experiencias realizadas arribaron a la conclusión de que la técnica inmunocromatográfica empleada es primata – específica, demostró presentar un límite de detección óptimo al diluirla con el buffer del kit, y una excelente repetibilidad. Además no se observaron resultados falsos positivos con fluidos biológicos, solución iodopovidona y extractos vegetales. Teniendo en consideración muestras de sangre expuestas a cambios ambientales, contacto con hipoclorito, con tierra sometida a condiciones de lluvia, se diluyeron o degradaron causando resultados falsos negativos y no observándose interferencias con otros elementos como polvo negro revelador, éster de cianocrilato u óxido, siendo a su consideración una excelente herramienta para el análisis forense de manchas de sangre.



# CAPÍTULO IV

## MARCO TEÓRICO

### PARTE I

Para estudiar el comportamiento de los inmunoensayos cromatográficos empleados en las manchas de sangre con posibles contaminaciones frecuentemente observadas en el ámbito criminalístico es necesario en primera instancia mencionar algunos conceptos fundamentales sobre la sangre, su composición y por consiguiente cuáles son sus características particulares.

#### SANGRE

##### **Función:**

La sangre es un tejido líquido (de color rojo; característicos por la presencia del pigmento hemoglobínico contenido en los eritrocitos), impulsado por el corazón que circula por los vasos sanguíneos a través del cuerpo. Es la encargada de transportar el oxígeno a todo el organismo y de recoger el bióxido de carbono producido por los tejidos, para transportarlo al pulmón y ahí cambiarlo nuevamente por oxígeno. (Franco de Ambriz, 2009).

##### **Estructura o composición del tejido sanguíneo:**

Según Franco de Ambriz<sup>3</sup>. La sangre está formada por las siguientes partes: sólida, fracción líquida y varias enzimas y proteínas.

1- La parte sólida son:

- a) Eritrocitos: hematíes o glóbulos rojos son células sin núcleo que se presentan en cantidad de 4.5 a 5 millones por milímetro cúbico. En su membrana o estroma, se encuentran los antígenos de los grupos

---

<sup>3</sup> Martha Franco de Ambriz (2009). "Hematología Forense y otras técnicas serológicas". Editorial: Porrúa Pág. 09 – 11.

sanguíneos, fosfolípidos, enzimas, etc., y en su interior contienen la hemoglobina así como sodio y potasio entre otras sustancias.

Es importante señalar que en la membrana del eritrocito encontramos los antígenos de los grupos sanguíneos también llamados aglutinógenos. En los eritrocitos, el grupo antigénico más inmunogénico es el del sistema ABO y le sigue el del sistema Rh<sup>0</sup> D.

- b) Leucocitos: o glóbulos blancos, en proporción de 5 a 10 mil por milímetro cúbico están considerados como medios de defensa del organismo. Producen anticuerpos de varios tipos incluyendo anticuerpos del grupo sanguíneo.
  - c) Plaquetas: o trombocitos, en cantidad de 200 a 400 mil por milímetro cúbico, participan en la coagulación de la sangre.
- 2- La fracción líquida o plasma que ocupa el 55% de su volumen. Esta fracción contiene numerosas proteínas y sales inorgánicas. Desde nuestro punto de vista es importante, ya que contiene, entre las proteínas: precipitinas, fibrinógeno, albúminas y globulinas.
- El suero es la fracción líquida que se obtiene después de la coagulación de la sangre extravasada y se encuentra por lo tanto desprovista de fibrinógeno.
- Los elementos descriptos en la sangre, nos permiten identificarla y efectuar la determinación del grupo sanguíneo eritrocitario.
- 3- Varias enzimas (fosfoglucosaminasa, fosfatasa ácida eritrocitaria, adenyl kinasa y 6-fosfoglucosaminato de hidrogenasa) y proteínas (hemoglobina y haptoglobinas), se utilizan también con fines forenses para tratar de individualizar una muestra de sangre por su frecuencia en la población.

### **Características:**

La sangre representa aproximadamente el 7% del peso de un cuerpo humano promedio. Así, se considera que un adulto tiene un volumen de sangre de aproximadamente cinco litros. La sangre arterial y oxigenada es de un color rojo brillante, mientras que la sangre venosa y parcialmente desoxigenada toma un color rojo oscuro y opaco. Sin embargo, debido a un efecto óptico causado por la forma en que la luz penetra a través de la piel, las venas se ven de un color azul.

### **Coagulación:**

Otro aspecto a tener en cuenta con respecto a las manchas de sangre es la coagulación de la misma, ya que la sangre cuando sale de los vasos sanguíneos se vuelve viscosa y toma luego una consistencia sólida, esto se debe a que el fibrinógeno plástico, que está en solución coloidal se transforma en un sólido, la fibrina, asimismo los líquidos del organismo que coagulan son los que contienen fibrinógeno.

Luego de la coagulación de la sangre o el plasma se observa la retracción del coagulo, y trazada entonces un líquido amarillo, el suero sanguíneo.

Al microscopio se observa que el coagulo está formado por una red de finos filamentos de fibrina, que aprisiona a los glóbulos rojos y blancos, y por suero sanguíneo; al formarse esta red se adhieren también las plaquetas.

El papel principal de la coagulación es que este es un mecanismo de detección de hemorragias pues ocluye los vasos abiertos y evita así que el organismo se desangre. La coagulación es un mecanismo que protege al organismo e interviene en la hemostasis impidiendo la pérdida de sangre. Las sustancias que intervienen en la coagulación son:

- Fibrinógeno: esta sustancia coagula por acción de la trombina, transformándose en fibrina. El fibrinógeno se origina en el hígado. En condiciones normales hay de 200 a 350 mg de fibrinógeno por cada 100 ml de plasma.
- Trombina: esta coagula las soluciones de fibrinógeno y durante la coagulación se forma a expensas de la protrombina. La trombina actúa sobre el fibrinógeno desdoblado sus moléculas y permitiendo la formación de fibrina.
- Protrombina: la protrombina pura no coagula al fibrinógeno necesita la presencia del ion calcio y sustancias que hay en las plaquetas y en el plasma que la transforman en trombina. Se forma en el hígado y este necesita la presencia fundamental de la vitamina K. existe tendencia a las hemorragias cuando la protrombina del plasma se reduce a un 20% del valor normal.

Lo único a tener en cuenta de la coagulación es el tiempo que tarda en producirse este fenómeno que es entre 5 y 15 minutos. Esto se obtiene extrayendo sangre venosa de un sujeto, colocarla en un tubo de vidrio 1ml aproximadamente y mantenerla en baño de agua a 37,5°C.

## **ESTUDIO DE MANCHAS DE SANGRE**

Las manchas de sangre, ocupan un lugar de relevancia, dentro de las muestras de origen biológico que ingresan para estudio en un laboratorio de Química Legal o Forense.

El estudio de estas manchas relevadas como evidencias o indicios de un hecho criminal, requieren de una batería de determinaciones, denominados habitualmente como *de rutina*.

### **Mecanismo de producción.**

Conforme lo expresado por Simonin<sup>4</sup> se puede enumerar los siguientes mecanismos de producción:

- 1) Proyección: Son las que se producen cuando la sangre sale proyectada, con cierta fuerza viva. Aquí el cuerpo del cual emanan se sacude o golpea con violencia, produciéndose así un lanzamiento de la sangre a distancia y en varias direcciones. También puede deberse a un reguero que escurre y gotea, cayendo la sangre desde cierta altura.
- 2) Escurrimiento: Aquí la sangre babea y debido a la concentración de cierta cantidad al ir cayendo por la acción de la gravedad forma regueros, charcos, etc. Estas por ejemplo permiten reconstruir los cambios de posición del cadáver.
- 3) Contacto: Cualquier objeto ensangrentado al contactar con un sustrato deja una impresión, como huellas de manos, pies, etc.
- 4) Impregnación: Mecanismo común a los anteriores. Este consiste en la imbibición del sustrato por el líquido. Si el tejido es absorbente, la sangre lo empapa y difunde por él dando lugar a manchas uniformes, circulares y de bordes netos.
- 5) Mecanismo mixto: Corresponde a la conjunción de los mecanismos de contacto e impregnación, siendo el origen de las manchas de *limpiadura*. Producen unas manchas características, de forma rectangular, con soluciones de continuidad y trazos transversales más densos, decreciendo progresivamente la intensidad del color de la mancha.

Tienen gran interés cuando dibujan una huella, así como cuando han sido producidas al enjugar un arma o palo para limpiarlo.

### **Examen en prendas.**

Un punto importante a tener en cuenta en el estudio de las manchas de sangre es el soporte sobre el cual se las puede encontrar: además de en superficies tales como paredes y pisos, metales o maderas, se hallaron en diversos objetos.

Sobre los géneros de las prendas de vestir es común hallar máculas de tejido hemático, desde manchas por impregnación en contacto con alguna herida emanada por el cuerpo de quien las vestía hasta salpicas e incluso vestigios dejados tras haber intentado lavarlas.

Sobre este punto se puede mencionar la valoración realizada por Mac Donnell<sup>5</sup> en donde habla de la *naturaleza del soporte*.

“El tamaño y las características del contorno (de las manchas) están condicionados muy directamente por las condiciones del soporte, tanto su superficie como su naturaleza

<sup>4</sup> Gisbert Calabuig (6ª Ed.)(2004) “Medicina Legal y Toxicológica”. Editorial: Masson Pág. 1258 - 1259.

<sup>5</sup> Gisbert Calabuig (6ª Ed.)(2004) “Medicina Legal y Toxicológica”. Editorial: Masson. Pág. 1259.

intrínseca.... Cuando se trata de superficies absorbentes, predomina el mecanismo de imbibición o impregnación, difundiendo la sangre en sentido periférico, por lo que las gotas no son satélites.” (H. L. Mac Donnell citado por Calabuig G. 2004).

Como contribución a lo ya expuesto se cita a Simonin<sup>6</sup>; quien manifiesta que:

“El descubrimiento de las manchas de sangre no es fácil cuando son muy pequeñas, o cuando asientan en vestidos de tinte oscuro o sobre telas u objetos lavados. La antigüedad y la naturaleza del soporte en el que se encuentran, modifican el color de las manchas.”

Para Guzmán<sup>7</sup>, de ser posible la concreción del examen de las ropas, que se supone vestía el sospecho al momento de un hecho; por medio del estudio en conjunto de la localización, tamaño y forma de las manchas de sangre puede ayudar a probar o refutar lo que aconteció en una investigación criminal.

### **Exámenes Analíticos**

Las principales determinaciones que debe realizar el laboratorio de química, en el ámbito criminalístico en relación a las manchas hemáticas conforme lo enunciado por Villanueva Cañadas<sup>8</sup> son:

- Diagnóstico genérico: Establecer la naturaleza sanguínea de la mancha.
- Diagnóstico específico: Establecer la especie a la que corresponde la mancha de sangre.
- Diagnóstico individual: Una vez demostrado que la mancha de sangre es humana, establecer a que individuo pertenece.
- Diagnóstico del sexo: Establecer el sexo y la región anatómica en que se produjo la hemorragia.
- Data de la mancha de sangre: Solo puede establecerse con grandes márgenes de error.

#### **Diagnóstico Genérico:**

El aspecto que presenta por lo general una mancha es demostrativo de que está constituida por sangre, en otras ocasiones es menos clara. Las técnicas analíticas aquí empleadas tienen mayor importancia para detectar pequeñas manchas invisibles o inaparentes o para excluir como sangre una mancha que lo parece en cuanto a forma y aspecto.

---

<sup>6</sup> Simonin Camille (1962) “Medicina Legal Judicial”. Editorial: Jims. Pág. 886.

<sup>7</sup> Guzmán Carlos (2000) “Manual de Criminalística”. Ediciones: La Rocca. Pág. 132.

<sup>8</sup> Gisbert Calabuig (6ª Ed.)(2004) “Medicina Legal y Toxicológica”. Editorial: Masson. Pág. 1259.

Como rutina se utilizan dos tipos de pruebas: *pruebas de orientación*, que tienen el inconveniente de ser poco específicas, al tener poca sensibilidad, y *las pruebas de certeza* que son totalmente específicas. Siendo aconsejable priorizar las pruebas de certeza en caso de contar con poco material biológico en el indicio.

### **Pruebas preliminares o de orientación**

Estas son reacciones que se utilizan como pruebas presuntivas para la identificación de sangre:

#### Reacción de Adler o de Bencidina

Conforme las bibliografías consultadas es una reacción que ocurre en un medio ácido. Citando a M. Franco de Ambriz<sup>9</sup> podemos decir que el fundamento químico de esta técnica es el siguiente:

Las peroxidasa sanguíneas son las catalasas, las cuales poseen actividad catalítica (enzimática), en las reacciones de orientación, debido a que tienen la propiedad de descomponer el peróxido de hidrógeno u otros peróxidos orgánicos.

El grupo *hem* de la hemoglobina posee esa actividad enzimática, que puede catalizar la ruptura del peróxido de hidrógeno. Esta actividad de la hemoglobina, descompone el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno, que al reaccionar con la bencidina la oxidarán formando un compuesto intensamente azul.

#### Reacción de Kastle Mayer o de fenolftaleína reducida

En este caso los textos leídos llevan a expresar que esta prueba opera en medio alcalino. Según F. de Ambriz el fundamento químico de esta reacción tiene el mismo principio señalado que para la técnica de Adler.

La diferencia de esta es que la fenolftaleína debe ser reducida previamente a fenolftaleína incolora. Unas gotas de este reactivo sobre la mancha, con el agregado de agua oxigenada; en caso de ser positivo se obtendrá una coloración rosa brillante.

---

<sup>9</sup> Martha Franco de Ambriz (2009) "Hematología Forense y otras técnicas serológicas". Editorial: Porrúa Pág. 25.

### Reacción de Medeinger o de Leuco Malaquita Verde:

Conforme lo expuesto por Caro P.<sup>10</sup>, esta reacción es una solución en medio acético de leucobase del verde de malaquita (colorante derivado del diaminotrifetilmetano).

F. de Ambriz<sup>11</sup> dice que se basa como las anteriores en una reacción de óxido reducción. Donde el prefijo “leuco” se refiere a la forma reducida incolora; la cual puede ser preparada por reducción de la malaquita verde.

La forma leuco puede ser oxidada por la acción de las peroxidasas para dar la forma oxidada verde, que se interpreta como un resultado positivo.

### Técnicas de Quimioluminiscencia:

Estas técnicas se emplean en el ámbito de la criminalística para lograr identificar una mancha de tejido hemático que ha sido previamente lavada. El reactivo más conocido es el *luminol* y el más recientemente utilizado en el ámbito forense es el conocido bajo el nombre de *Bluestar*, (derivado del luminol).

Para Caro P.<sup>12</sup>, este análisis (con el empleo de luminol) está indicado para investigación de trazas y es aplicable en relevamientos de superficies extensas que presumiblemente han sido lavadas para borrar evidencias.

Es importante mencionar que la prueba se practica en ausencia de luz de cualquier origen. Se interpreta un resultado positivo con la luminiscencia azul que permitirá visualizar las posibles manchas de sangre.

### Otras técnicas o reacciones:

---

<sup>10</sup> Caro P. (2007) “Manual de Química Forense”. Ediciones: La Rocca Pág. 39.

<sup>11</sup> Martha Franco de Ambriz (2009). “Hematología Forense y otras técnicas serológicas”. Editorial: Porrúa Pág.30.

<sup>12</sup> Caro P. (2007). “Manual de Química Forense”. Ediciones: La Rocca Pág. 40 – 41.

Además de las nombradas anteriormente, podemos mencionar las reacciones de:

- Van Deen (tintura de guayaco); el resultado positivo se da con un coloración azul.
- Thevenon y Roland (piramidon); es positivo cuando se observa coloración violeta.
- Kohn O` Kelly (ortotoluidina); la indicación de un resultado positivo se da cuando vira a verde azul.

### **Pruebas de confirmación o certeza**

Se basan en poner de manifiesto algún elemento característico de la sangre.

Estos se dividen en<sup>13</sup>:

#### **Métodos microscópicos:**

Se basan en la observación de los elementos figurados de la sangre. La observación de glóbulos rojos y blancos puede presentar problemas en manchas de sangre seca. Esta observación puede verse afectada por diferentes circunstancias: la naturaleza del sustrato sobre el cual se encuentra la mancha, la antigüedad de la misma, el daño originado por el manipuleo y la putrefacción que causa la destrucción de los elementos figurados.

- Observación de Leucocitos (glóbulos blancos):

La técnica a emplear dependerá de si la mancha se encuentra sobre un material absorbente: una tela, o un soporte no absorbente: una hoja metálica.

Una vez preparada la muestra se procede a observar en microscopio la presencia o no de glóbulos blancos, particularmente de los polimorfonucleados.

- Observación de Eritrocitos (glóbulos rojos):

---

<sup>13</sup> Policía Federal Argentina (1983). "Tratado de criminalística - La química analítica en la investigación del delito". Tomo II Pág. 206 - 207.

En este análisis se observa la presencia de glóbulos rojos, la presencia de los mismos es suficiente para caracterizar la mancha.

### **Métodos microcristalográficos**

Estos métodos se basan en la preparación y observación microscópica de cristales obtenidos por acción de ciertos reactivos sobre la hemoglobina de la sangre.

#### **- Cristales de Teichmann o de Hemina:**

El fundamento químico de esta técnica siguiendo a M. F. de Ambriz<sup>14</sup> es:

La hemoglobina, cuando es tratada con ácido acético, se separa inmediatamente de las proteínas y del grupo prostético. La oxidación del hierro del grupo *hem* se efectúa más rápidamente en medio ácido que en medio alcalino. Si está presente un halógeno inorgánico como el cloro, se formarán cristales insolubles de cloruro de ferriprotoporfina o hemina.

Al observar al microscopio en caso positivo se apreciarán cristales romboidales de color café oscuro.

#### **- Prueba de Takayama o Cristales de hemocromógeno:**

Esta prueba se consigue por la acción de un agente hematinizante (hidróxido de sodio), uno reductor (glucosa, sacarosa, ácido ascórbico) y una base nitrogenada (piridina). (Castelló 2009<sup>15</sup>).

Esta prueba es más sensible y sencilla que la de los cristales de hemina y no se dan casos de falsas reacciones positivas. Al observarlo al microscopio; cuando es positivo se observarán cristales de color rosado intenso y de aspecto de red o similar a helechos. (F. de Ambriz Op. Cit.).

---

<sup>14</sup> Martha Franco de Ambriz (2009). "Hematología Forense y otras técnicas serológicas". Editorial: Porrúa Pág. 37 – 40.

<sup>15</sup> Castelló Ponce, Ana. (2009). "Manual de Química Forense. Hic Locus Est Ubi Scientia Gaudet Succurrere Justitiae". Editorial: Comares Pág. 180.

### **Método cromatográfico**<sup>16</sup>

Se basa en la obtención del mismo Rf (relación de frentes o factor de retención) característico para un extracto de la muestra y un testigo de sangre, ambos sembrados sobre papel para uso cromatográfico o sobre placa delgada.

Una vez procesada la mancha se obtendrá un resultado positivo (existencia de sangre) cuando aparezca en la placa cromatográfica una manchita verde más o menos intensa con un Rf de 0,7 a 0,8.

### **Método microespectroscópico**

Este método consiste en observar el espectro de absorción de la oxihemoglobina, con un microscopio provisto de un ocular microespectroscópico, en lugar del ocular corriente.

El inconveniente de este método es cuando se trabaja con una mancha antigua, la hemoglobina se habrá transformado parcialmente en metahemoglobina, hematina y hemocromógeno. Cada una de estas sustancias da un espectro de absorción característico, dificultando la observación.

### **Diagnóstico específico**

En este punto lo que el perito debe establecer es la especie; si la sangre es humana o no. La sangre es una suspensión de células en un medio líquido. En ambos componentes se pueden observar caracteres que llevan a lograr la identificación de la especie.

Los elementos que se deben analizar y visualizar en este punto son: la hemoglobina, el suero (antígenos y anticuerpos) y los elementos formes (hematíes). (Calabuig, 2004)<sup>17</sup>.

### **Diagnóstico individual:**

---

<sup>16</sup> Policía Federal Argentina (1983). "Tratado de criminalística - La química analítica en la investigación del delito", Tomo II, Pág. 211 - 213.

<sup>17</sup> Gisbert Calabuig (6ª Ed.)(2004). "Medicina Legal y Toxicológica". Editorial: Masson. Pág. 1259.

Luego de comprobar que la sangre procedente de la mancha es humana, se debe intentar establecer el diagnóstico individual; que bien es sabido que generalmente no individualiza, sino que agrupa dentro de una clase. Para lo cual podemos enumerar los siguientes métodos:

- I. Métodos basados en la investigación de aglutinógenos.
- II. Métodos basados en la investigación de los grupos plasmáticos.
- III. Grupos enzimáticos eritrocitarios.
- IV. Grupos leucocitarios.
- V. Polimorfismos ADN. (Calabuig. Op. Cit.)

#### **Diagnóstico de la región de donde procede la sangre:**

Este diagnóstico se basa en el estudio citológico de los elementos formes que contenga la mancha. La presencia de células de descamación típicas de las distintas regiones es lo que establece el diagnóstico. El ARN podría ser útil, aunque surge el inconveniente de la poca estabilidad posmortal de este ácido ribonucleico. (Calabuig. Op. Cit.)

#### **Diagnóstico del sexo del individuo de quien procede la sangre:**

Hasta hace poco el único procedimiento para determinar el sexo en una mancha era el estudio de la cromatina nuclear de Barr, que daba resultados poco fiables. Otro estudio fue el de ZECH el cual se basaba en la marcada fluorescencia tras tinción con quinacrina que se observaba en la porción distal del cromosoma Y. (Calabuig. Op. Cit.).

## PARTE II

En esta parte de la tesina se desarrollaran los temas relacionados a el diagnóstico específico de tejido hemático humano y como se procesaran las muestras en esta práctica de investigación.

### QUÍMICA LEGAL O FORENSE

*«La Química Forense es el conjunto de conocimientos derivados de las diferentes especialidades de las Ciencias Químicas dedicadas, junto con las demás Ciencias Forenses, a contribuir a la armonización de las relaciones entre el individuo, la sociedad y sus normas legales».*

*Prof. Fernando Verdú.*

Encuadrado bajo el análisis o estudio de la Química Forense un indicio comúnmente remitido o procesado en una investigación delictiva es la presencia de manchas visibles o latentes de sangre, que dependiendo del lugar del hecho, pueden haber sufrido alteraciones diversas, tales como; haber sido lavadas, contaminadas o sometidas a condiciones atmosféricas que pueden llegar a degradarlas.

Un punto importante en la identificación de una mancha de tejido hemático, si su origen es humano, el análisis genético hará posible, en el mejor de los casos, identificar a la persona de la que derivan esas manchas.

## Diagnóstico de especie

Una vez realizados los ensayos confirmatorios de sangre, y previo a su tipificación debe efectuarse la investigación del origen al cual pertenece la muestra. Para ello pueden realizarse los siguientes estudios o técnicas:

### *Estudio de los elementos formes de la sangre*<sup>18</sup>:

Este consiste en un estudio microscópico mediante Ultropack, directamente sobre una muestra o después de una preparación previa, puede orientar sobre la especie a la que pertenece la sangre, observando las diferencias en los hematíes y leucocitos, en cuanto a la forma de la célula y su núcleo. Es importante en este estudio contar con una concentración suficiente de sangre.

### *Estudio de la hemoglobina:*

Este estudio se realiza por diferentes métodos como por ejemplo:

- Cristalográficos: Consisten en analizar las diferencias de los cristales que produce la hemoglobina para las distintas especies.
- Espectrográficos.
- Los que se basan en el estudio de diferencias estructurales: Obteniendo la secuencia de aminoácidos.
- Los que se basan en el estudio de diferencias de parámetros químico – físicos: Incluye estudios de solubilidad, desnaturalización, movilidad cromatográfica y electroforética, diferencias antigénicas. (Verdu Op. Cit.)

---

<sup>18</sup> Verdú Pascual, F. A. (2006). "Del Indicio a la Evidencia". Editorial: Comares Pág. 81.

### **Técnicas basadas en la reacción antígeno - anticuerpo:**

El fundamento de este método<sup>19</sup>, nos dice que cuando se introduce una proteína (antígeno) propia de una especie en el organismo de otra especie, se produce una reacción de defensa con aparición de anticuerpos.

Como el antígeno reacciona exclusivamente con su anticuerpo complementario, se podrá determinar si en una muestra existe un determinado antígeno añadiéndole el anticuerpo complementario y observando si se produce o no reacción.

Esta reacción antígeno - anticuerpo puede llevarse a cabo de diferentes formas. La técnica a emplear deberá ser elegida por el investigador según sus necesidades y posibilidades.

### **Los métodos empleados para el: “Ensayo de las precipitinas” pueden ser<sup>20</sup>:**

#### **Método del tubo de ensayo:**

Esta reacción puede encontrarse en alguna bibliografía como “reacción de Uhlenhut o ring test”.

En un tubo se coloca en orden el antisuero, el extracto de la mancha de sangre, diluido aproximadamente 1: 1000. En caso de resultar positivo, se debe formar un anillo neto en la interfase de los dos líquidos.

#### **Método en capilares:**

Este método resulta adecuado para economizar antisuero o cuando se dispone de muy poca cantidad de muestra. Se utilizan tubos capilares en el que se sumerge un extremo del tubo en el antisuero y luego en el extracto de la mancha.

El capilar se coloca verticalmente sobre una base de plastilina y se leerá un resultado positivo con la presencia de un anillo en la interfase de los dos líquidos, al igual que en la de tubo.

#### **Método electroforético:**

<sup>19</sup> Verdú Pascual, F. A. (2006). “Del Indicio a la Evidencia”. Editorial: Comares Pág. 82.

<sup>20</sup> Policía Federal Argentina (1983). “Tratado de criminalística - La química analítica en la investigación del delito”, Tomo II Pág. 218 - 222.

Esta técnica brinda la posibilidad de efectuar el ensayo en un lapso corto. El método consiste en una electroforesis en un medio soporte, constituido por gel de agar. Este test también puede encontrarse en los textos de química forense como “Test de Ouchterlony”.

La precipitación sobre gel tiene la ventaja de poder realizarse con el extracto de una mancha de sangre aunque éste sea turbio, y requiere de muy pequeña cantidad de muestra, pero tiene como desventaja el emplear varias horas para que se efectúe la difusión.

La técnica electroforética, tiene la ventaja de acelerar la difusión sobre el gel y por lo tanto disminuye el tiempo de reacción además de ser más sensible que las otras técnicas, pero requiere de un equipo muy costoso.

Un resultado positivo de esta reacción se observa con la formación de bandas de precipitación en la zona comprendida entre el antígeno y el anticuerpo.

### **Diagnóstico inmunocromatográfico de hemoglobina humana mediante kits:**

Ana Castelló<sup>21</sup> en “Del indicio a la evidencia”, menciona que: Estos kits han sido diseñados, en principio, para la detección de sangre en heces. Expone que se utilizan en clínica y por lo tanto sobre muestras controladas. Siendo necesario en el ámbito criminalístico un estudio previo de validación para conocer si son adecuados o no para este tipo particular de muestras.

### **Introducción a los inmunoensayos**

El uso de estos kits es muy sencillo y similar en todos ellos. Generalmente la muestra se mezcla con un líquido que actúa como transporte y unas gotas de esta mezcla se pasan al kit, donde se leerá visualmente si la muestra estudiada contiene o no sangre humana.

Los métodos inmunológicos o inmunoensayos son métodos analíticos basados en la reacción Antígeno- Anticuerpo (**Ag-Ac**).

Se entiende como antígeno (**Ag**) cualquier molécula que puede ser reconocida específicamente por cualquiera de los componentes del sistema inmunitario (SI) que protege al organismo de una amplia variedad de agentes infecciosos. En un sentido más restrictivo un Ag es cualquier molécula capaz de inducir la producción de anticuerpos (**Ac**) específicos.

---

<sup>21</sup> Verdú P. (Coord.) (2006). “Del Indicio a la Evidencia”. Editorial: Comares Pág. 84 - 85.

Los anticuerpos (**Ac**), también conocidos como inmunoglobulinas, son un grupo de moléculas séricas que producen los linfocitos B. Los diferentes tipos de Ac tienen una estructura básica común a todos ellos, siendo específico de cada uno el sitio por el que se unen al Ag. La zona de la molécula del Ag a la que se une el Ac se denomina **epítipo**. Un antígeno puede presentar un número variable de epítipos de estructura única o repetitiva. La complejidad estructural de las proteínas favorece que éstas presenten por lo general un número elevado de epítipos. Los reactivos para anticuerpo se desarrollan a partir de anticuerpos policlonales y monoclonales.



Los inmunoensayos se pueden clasificar en:

- Inmunoensayos Directos: Medida directa del complejo Ag-Ac.
- Inmunoensayos Indirectos (o con reactivos marcados): Requieren el uso de material marcado para medir la concentración de antígeno o anticuerpo presente.

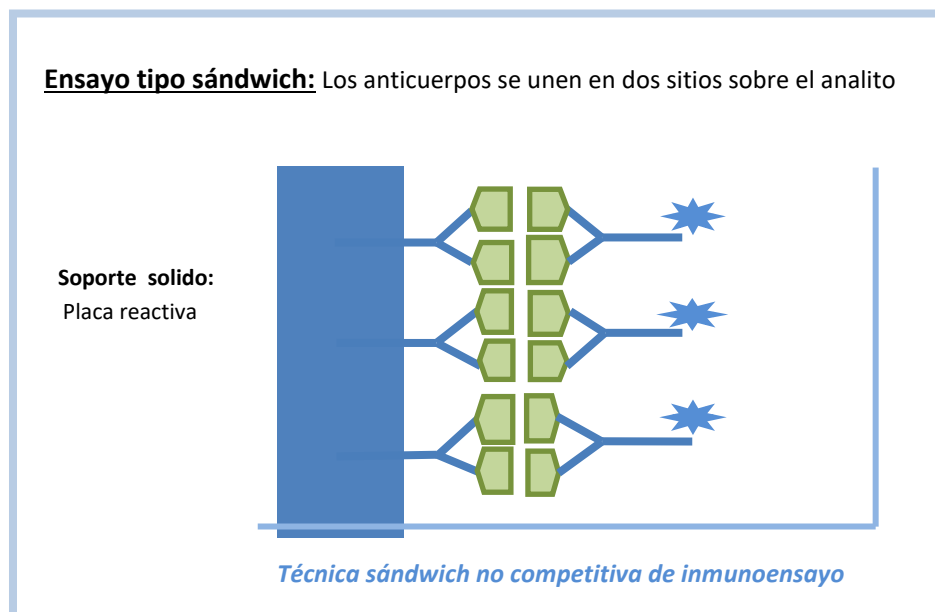
Estos a su vez se clasifican:

- Según el TIPO DE MARCADOR:
  - **Radioinmunoensayos:** La reacción Ag-Ac se pone de manifiesto por la competición entre el Antígeno o el Anticuerpo que estemos estudiando y una concentración conocida del mismo compuesto marcado radiactivamente.
  - **Fluoroimunoensayos:** Para la realización de estas técnicas el anticuerpo se marca con un fluorocromo detectándose en la formación el complejo Ag-Ac por la fluorescencia emitida.
  - **Enzimoimunoensayos:** Utilizan una enzima como marcador para amplificar la señal obtenida de la reacción entre un antígeno y un anticuerpo. Dentro de los enzimoimunoensayos hay que destacar los:
    - **Quimioimunoensayos:** En los cuales la enzima cataliza la oxidación de un sustrato.
- Según el MÉTODO DE SEPARACIÓN:
  - **Heterogéneos:** El Ag marcado unido al Ac (Ac-Ag\*) debe de ser físicamente separado del Ag marcado que permanece libre en la disolución (Ag\*). El procedimiento de separación puede llevarse a cabo por precipitación de los Ac o por la adición de un segundo Ac que atrapa y precipita el Ac original.
  - **Homogéneos:** No requieren la separación de la unión anti Ac-Ag\* del Ag\* libre.
- Según el DISEÑO DEL ENSAYO:
  - **Competitivos:** En los formatos competitivos, el analito sin marcar (generalmente antígeno) en la muestra se mide por su capacidad para competir con un antígeno marcado en el inmunoensayo. El antígeno sin marcar bloquea la capacidad del antígeno marcado de unirse puesto que ese punto de unión en el anticuerpo ya se encuentra ocupado. En el formato competitivo de un solo paso tanto el reactivo del antígeno marcado (Ag\*) como la muestra sin marcar

(o analito de la muestra) compiten por una cantidad limitada de anticuerpo. La concentración de antígeno es inversamente proporcional a la concentración de la señal.

- **No competitivos (o “sándwich”):** El analito está unido (como un sándwich) entre dos reactivos de anticuerpo muy específicos.

Los formatos de ensayo no competitivos generalmente proporcionan el nivel más alto de sensibilidad y especificidad del ensayo.



En los ensayos no competitivos, la medición del analito marcado, generalmente un anticuerpo, es directamente proporcional a la concentración de antígeno presente en la muestra, lo que puede representarse por medio de una curva de respuesta a la concentración.

### **Fundamento pruebas inmunocromatográficas**

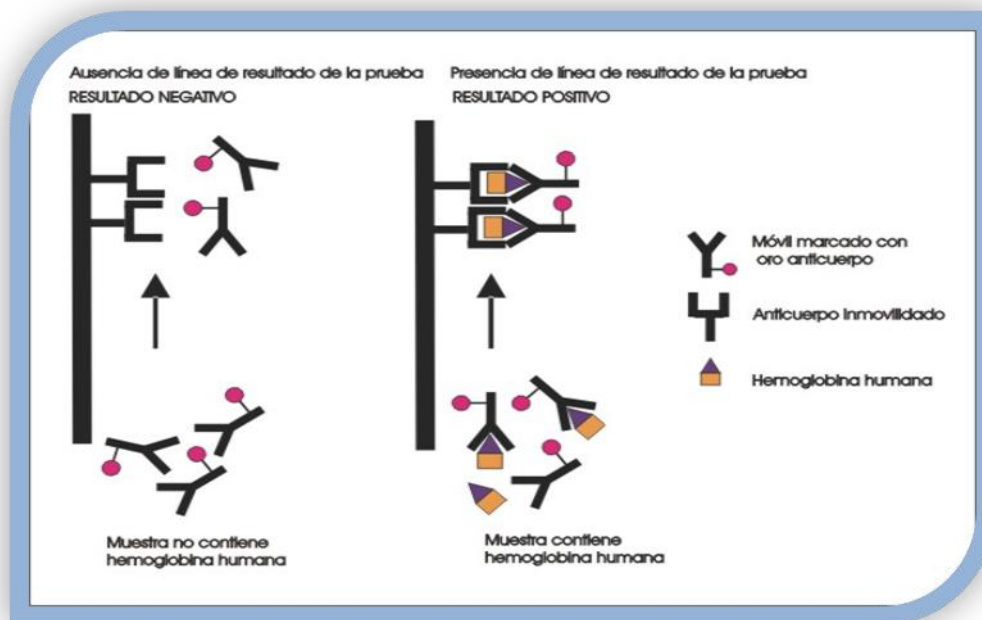
Dentro de los análisis llevados a cabo por los laboratorios de Química Legal, en el ámbito forense cabe la mención del fundamento dado por Ana Castelló Ponce<sup>22</sup>, el que expone que independientemente del fabricante, el fundamento es idéntico:

Constan de una placa reactiva que contiene en primer lugar, un compuesto unido a un anticuerpo monoclonal antihemoglobina humana. Su misión será capturar la hemoglobina formando un inmunocomplejo.

Este migrará hasta encontrar un segundo anticuerpo antihemoglobina humana, que retiene la proteína. La formación de una línea coloreada indica el resultado positivo.

El conjugado libre continúa avanzando hasta llegar a una zona en la que quedara inmovilizado por un anticuerpo anticonjugado. La presencia de una segunda línea asegura que todo ha funcionado correctamente. Es la banda de control.

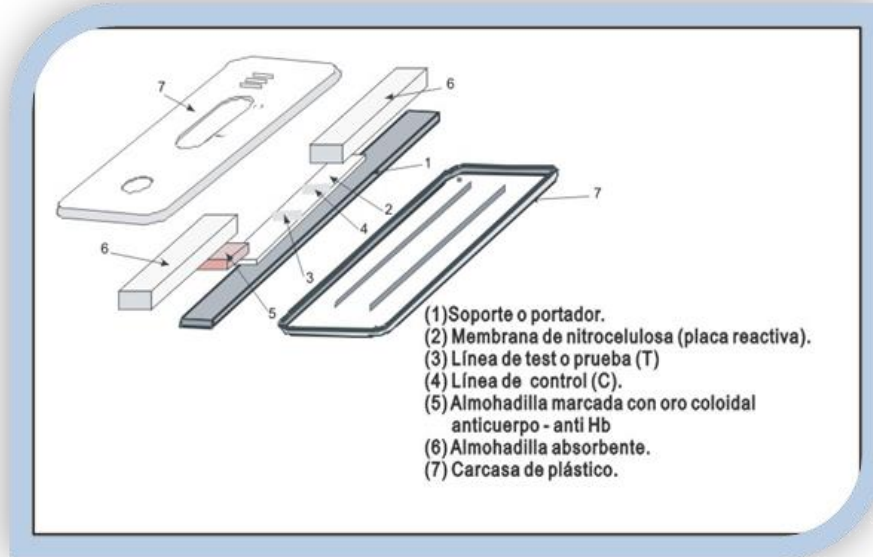
El proceso presenta las ventajas de ser muy simple y rápido. Solo es necesario poner unas gotas del problema en el pocillo de la placa reactiva y esperar unos minutos.



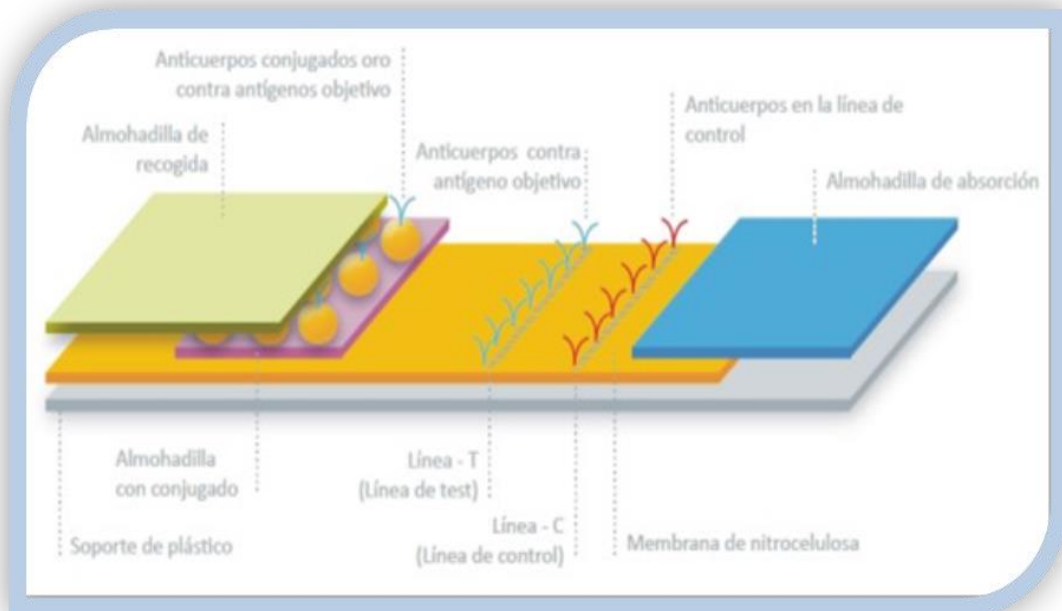
### Principio de funcionamiento de la prueba

<sup>22</sup> Castelló Ponce, Ana. (2009). "Manual de Química Forense. Hic Locus Est Ubi Scientia Gaudet Succurrere Justitiae". Editorial: Comares Pág. 181.

Estas pruebas inmunocromatográficas, no competitivas, tipo sándwich pueden presentarse dependiendo de la marca comercial a la que correspondan de dos formas diferentes, en cassette o en tiras:



**Partes componentes de cassette de ensayo inmunocromatográfico**



**Partes componentes de tira de ensayo inmunocromatográfico**

### **Kit inmunocromatográfico para la detección de sangre oculta “Hem- Check-1” de la firma comercial Vedalab.**

Esta es una de las pruebas que se emplearan para el presente trabajo de investigación<sup>23</sup>:

#### Uso indicado:

Ensayo inmunocromatográfico, para la detección de sangre oculta en materia fecal. Uso “in vitro”.

#### Forma de presentación:

- Dispositivo Hem – Check-1. (placa reactiva)
- Tarjeta de recolección de muestra (puede o no usarse en las muestras forenses)
- Gotero plástico. (tipo pipeta Pasteur)
- Tubo plástico con 2ml de solución de extracción. (buffer salino fosfato 0,1 M)

#### Descripción de los componentes:

- ✓ El dispositivo Hem-Check-1 se presenta listo para su uso. Se compone de un dispositivo absorbente y de la combinación de un anticuerpo monoclonal conjugado marcado y un anticuerpo policlonal en fase sólida.
- ✓ La solución de extracción consiste en un buffer salino fosfato 0,1 M, pH 0,2.

#### Reacción cruzada:

Esta prueba no ha presentado reacción cruzada con la hemoglobina de animales como conejos, chanchos, ovejas y bovinos.

#### Rango de uso:

El rango de la misma se ha determinado conforme lo expresado agregando diferentes cantidades de sangre sobre material de prueba, variando desde 0,04 mg de Hb/gr de materia fecal hasta 120 mg de Hb/gr de materia fecal.

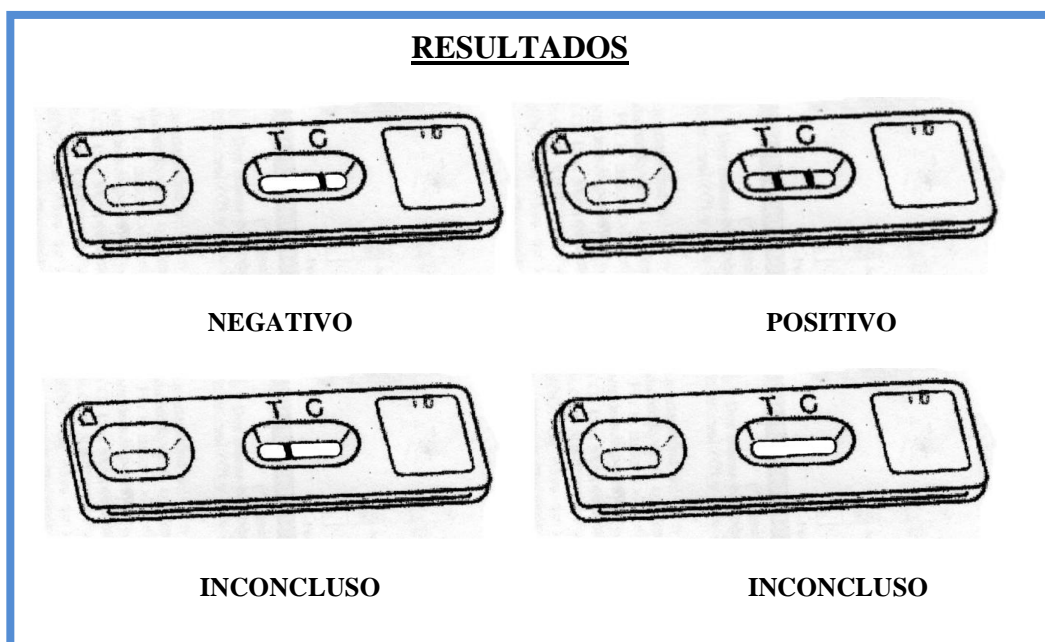
#### Interpretación del resultado:

---

<sup>23</sup> Manual de instrucciones “Hem – Check-1” de Vedalab.

El ensayo es de lectura visual por medio de la aparición de bandas de color. Siendo el resultado:

- ❖ *Negativo*: Cuando aparece sólo una banda coloreada.
- ❖ *Positivo*: Cuando aparecen dos líneas claramente distinguibles.
- ❖ *Inconcluso o No válido*: Si en la zona control del test no se distinguen bandas de color. Debiendo repetirse.



**Ilustración de los posibles resultados que se pueden obtener con el inmunoensayo.**

**Kit inmunocromatográfico para la detección de sangre oculta “Acon” de la firma comercial Acon S.R.L.**

En este caso describiré la otra prueba que se empleara para este trabajo investigativo<sup>24</sup>:

Uso indicado:

La prueba FOB de sangre oculta fecal en un solo paso en tira es una prueba de inmunoensayo cromatográfico para la detección cualitativa de sangre humana. Solo para uso profesional de diagnóstico in vitro.

<sup>24</sup> Manual de instrucciones “Acon FOB” de Acon S.R.L.

#### Forma de presentación:

- Dispositivo Acon FOB. (tira)
- Tubo plástico. (tipo tubo de ensayo)
- Tubo para colección de la muestra con solución de extracción. (buffer no especifica características)

#### Descripción de los componentes:

- ✓ La prueba en tira contiene partículas de anticuerpo anti hemoglobina cubierto en la membrana.
- ✓ La solución de extracción no posee especificación.

#### Reacción cruzada:

Especímenes que contienen las sustancias siguientes fueron diluidas en el buffer de extracción a condensaciones de 1,0 mg/ml y examinadas con controles negativos, sin ningún efecto en la prueba: hemoglobina bovina, hemoglobina avícola, hemoglobina de cerdo, hemoglobina canina, hemoglobina de caballo, hemoglobina de conejo y hemoglobina de pavo.

#### Rango de uso:

El rango de esta prueba de sangre oculta fecal, puede ser detectado a niveles de sangre oculta humana tan bajos como 50 ng/ml o 6 µg/g.

#### Interpretación del resultado:

La prueba es de lectura visual por medio de la aparición de líneas coloreadas. Siendo el resultado posible:

- ❖ *Positivo\**: Dos líneas coloreadas aparecen.
- ❖ *Negativo*: Una línea coloreada aparece en la región control (C).
- ❖ *Inconcluso o No válido*: La línea de control no aparece. Repetir la prueba con una nueva tira.

\* Nota: La intensidad del color de la banda de la región de prueba (T) puede variar dependiendo de la concentración de la sangre fecal presente en el espécimen. Por lo tanto cualquier tonalidad del color en la región de la prueba (T) debe ser considerado positivo.

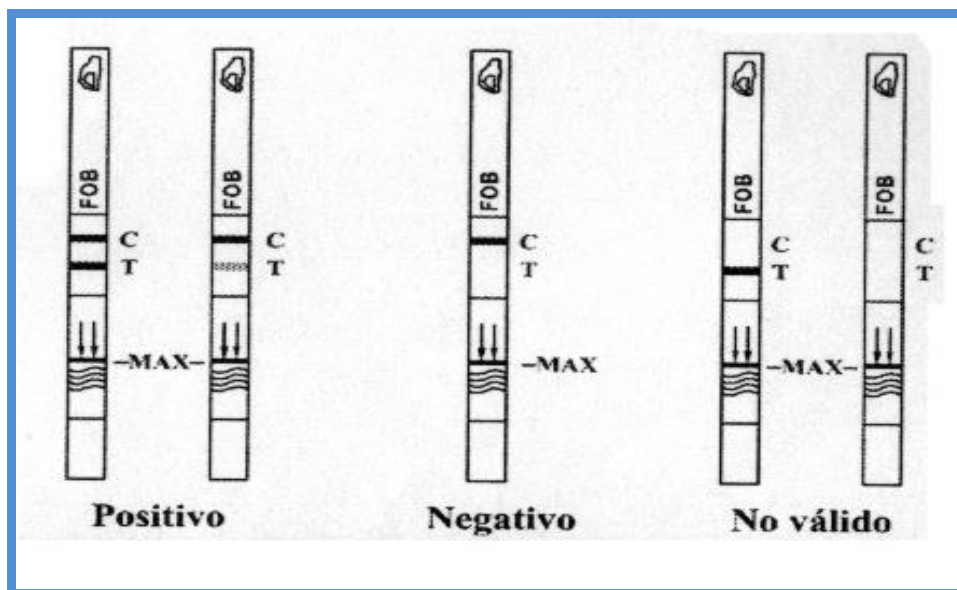


Ilustración de posibles resultados a obtener con el inmunoensayo.

## CONTAMINACIÓN DE LAS MANCHAS

De acuerdo con lo expuesto por Castelló Ponce<sup>25</sup>. En toda investigación criminal, uno de los indicios de mayor interés médico – legal son las manchas.

El estudio de estas facilita la reconstrucción de los hechos y la investigación que se aplica sobre ellas en el laboratorio, puede aportar datos que posibilitan, en el mejor de los casos, la identificación de la autoría.

Las manchas con las que se trabaja en Criminalística presentan para el investigador problemas muy particulares. Entre los principales obstáculos que serán necesarios superar se encuentran: la dificultad que en ocasiones se presenta para localizar e identificar las manchas de sangre, la cantidad, concentración y/o contaminación de la mancha.

Esta puede ser debida al soporte, a la manipulación (intentos de lavado por ejemplo), a la antigüedad de la mancha, a la degradación de sus componentes. Se puede hablar de contaminación química cuando se produce por la mezcla de la muestra con agentes químicos no biológicos (pinturas, productos de limpieza, etc.)

<sup>25</sup> Verdú Pascual, F. A. (2006). "Del Indicio a la Evidencia". Editorial: Comares Pág. 63 - 64.

Gil Pitarch P y otros<sup>26</sup>, dicen: Las muestras biológicas criminales, entre las que destacan las manchas de sangre, tienen las siguientes particularidades, respecto a otro tipo de muestras como son las clínicas:

*Concentración:* Puesto que la cantidad de sangre no es la que solicita o desea el investigador, sino que ésta viene dada por las características del hecho investigado.

*Conservación:* Las muestras recogidas para estudio criminal por norma han estado expuestas a circunstancias ambientales o a manipulaciones intencionadas que influyen en el estado de conservación. Estarán tanto peor conservadas, cuanto más expuestas al ambiente externo hayan estado o más manipulaciones hayan soportado. Siendo este un motivo de contaminación.

*Degradación:* En directa relación con la conservación y más en concreto con las posibles acciones directas sobre las muestras, se encuentra el hecho de que se deteriore el material biológico o lo que es lo mismo, que se degrade.

*Contaminación:* La exposición del material biológico al ambiente o a acciones externas determina que puedan contaminarse, es decir, incorporar material biológico o no biológico, que influya en los resultados.

### **Contaminantes empleados**

En este trabajo de investigación se emplearán los siguientes productos o sustancias utilizadas como contaminantes de las manchas de sangre a procesar con los inmunoensayos en estudio:

#### **Reactivo quimioluminiscente**

---

<sup>26</sup> Gil P.P., Verdú F. A., Castelló P. A. Negre C.M. (2010). Revista de la Escuela de Medicina Legal, Nº 14, Pag. 4 - 14.

Este tipo de reactivo se emplea cuando no hay manchas visibles. La Dra. Rosa Graelis de Kempny y colaboradoras<sup>27</sup> manifiestan que es un producto utilizado en ensayos preliminares en manchas de sangre. Los ensayos preliminares son pruebas rápidas basadas en la actividad peroxidasa que posee el grupo **Hemo** de la hemoglobina de la sangre y que, en presencia de agua oxigenada y de ciertos reactivos orgánicos, dan lugar a la aparición de coloraciones o luminiscencia que orientan sobre la existencia de sangre en las muestras analizadas.

La peroxidasa descompone el agua oxigenada, produciéndose agua y oxígeno. Es este oxígeno el que actúa sobre el reactivo orgánico reducido, transformándolo en su forma oxidada, de color característico o luminiscente, que sería el de este caso.

El Luminol es un derivado del ácido ftálico. Se trata de un sólido verdoso poco soluble. Su mayor importancia reside en la reacción de quimioluminiscencia que da con peróxidos en presencia de complejos de hierro como catalizadores.

Castelló Ponce<sup>28</sup> manifiesta lo siguiente: El luminol (3- aminophtalhidrazida) es un compuesto capaz de emitir luz en el transcurso de una reacción química. Cuando se hace reaccionar luminol con sangre en medio básico y en presencia de un oxidante, se observa la formación de una luminiscencia brillante que indica la posible presencia de sangre.

### **Bluestar forensic<sup>29</sup>**

De acuerdo a lo expresado por Ana Castelló Ponce, este es un reactivo de más reciente uso, utilizado para la búsqueda de trazas de sangre. Es un derivado del luminol. Presenta como ventajas frente al compuesto original; que genera una luminiscencia más brillante y se ve menos afectado por las interferencias de los hipocloritos.

---

<sup>27</sup> Policía Federal Argentina (1983). "Tratado de criminalística - La química analítica en la investigación del delito", Tomo II Pág. 198 – 199.

<sup>28</sup> Verdú Pascual, F. A. (2006) "Del Indicio a la Evidencia". Editorial: Comares Pág. 71 - 72.

<sup>29</sup> Castelló Ponce, Ana. (2009). "Manual de Química Forense. Hic Locus Est Ubi Scientia Gaudet Succurrere Justitiae". Editorial: Comares Pág. 176.

Se pueden encontrar en el mercado diferentes presentaciones de Bluestar<sup>30</sup>:

- Bluestar Forensic Magnum: Es un reactivo tres veces más potente que el Bluestar Forensic normal; el mismo está destinado a revelar diminutas partículas de sangre, también es útil cuando se buscan manchas de sangre en prendas de vestir u objetos.
  
- Bluestar Forensic Destroyer: Es utilizado en el entrenamiento forense de técnicos en la escena del crimen y sirve únicamente para este propósito, ya que debido a su alta alcalinidad (pH superior a 11,5), no es aconsejable en escenas del crimen reales, destruyendo el ADN.
  
- Bluestar Forensic Free: Es un reactivo muy sensible para la detección de mínimas cantidades de sangre en diferentes soportes o en pequeñas áreas, siendo adecuado para una investigación preliminar en la escena del crimen o en situaciones que requieren menos producto revelador; a la vez se puede trabajar tanto en manchas de sangre fresca, como en manchas viejas, alteradas, diluidas o puras. Tiene un pH de 11,5 y no destruye el ADN, permitiendo así análisis posteriores. Es fácil y seguro de preparar, no es tóxico gracias a la ausencia de perborato de sodio y es fácilmente reciclable.

Este reactivo, produce una reacción de quimioluminiscencia que ocurre cuando la Urea (base nitrogenada) más una sustancia fuertemente alcalina (peróxido de hidrogeno) en presencia de agentes óxido reductores (hierro de la sangre), peroxidasas y/o catalasas hacen que libere oxígeno del álcali más agua y estos desplacen nitrógenos de la urea, liberándolos, por ser estos muy inestables ( $N_2$ ) forman fotones que se pueden observar en la oscuridad mediante la emisión de luz azul brillante. Cuando no existen agentes óxido reductores, peroxidasas y/o catalasas en esta reacción, no se observa la emisión de luz azul brillante<sup>31</sup>

#### Reactivo revelador de huellas papilares

---

<sup>30</sup> Bluestar Forensic. El mejor revelador de manchas de sangre oculta en la escena del crimen. Madrid. España.  
[www. Bluestar – Forensic.com](http://www.Bluestar-Forensic.com).

<sup>31</sup> [www. Bluestar. Ciencia Forense.cl](http://www.Bluestar.CienciaForense.cl)

Para poder hacer visible un huella o rastro papilar es necesario del empleo de diferentes reactivos. Nieto Alonso<sup>32</sup> menciona que para hacer visibles estas huellas, se someten a la acción de reactivos reveladores, físicos o químicos. Los reactivos *físicos* o mecánicos actúan por adherencia al agua y/o a la materia sebácea de las huellas. Los *químicos* reaccionan químicamente con alguno de los componentes de las mismas.

Por otro lado según los autores Alegretti y Brandimarti de Pini<sup>33</sup> los reveladores físicos son los denominados polvos adhesivos, los que se presentan en diferentes calidades y colores, su elección y aplicación dependerá de la superficie donde se encontrare la huella. Son polvos muy finamente tamizados al grado de ser volátiles e impalpables, con el objeto de eliminar la posibilidad de formación de grumos.

Los reactivos físicos pueden ser; por ejemplo polvos blancos, negro, aluminio, bronce, rojos, fluorescentes y polvos magnéticos.

### **Polvo negro revelador**

Los **polvos negros** habitualmente están constituidos por grafito, carbón vegetal de alta calidad o distintos compuesto sintéticos. El negro marfil se obtiene del marfil calcinado y pulverizado, existiendo otro de menor calidad que se genera a partir de la calcinación de huesos, lo cual da una tonalidad grisácea. El negro Sudán revela huellas en color azul oscuro y se comercializa en soluciones listas para usar. El negro de humo obtenido por la combustión de sustancias resinosas, provoca un vapor que ofrece excelentes contrastes sobre superficies blancas, azules y violetas. Este reactivo es uno de los más comúnmente utilizados, teniéndose en cuenta para su uso, el color de las superficies sobre las que se aplicará. Se aplican a las superficies lisas, o pulimentadas, transparentes, o colores blancos, como vidrio, metal pulido, aluminio, madera barnizada, loza, porcelana, azulejos, entre otros. Son reveladores que tienen el inconveniente de ser muy sucios, pero da óptimos resultados. (Alegretti - Brandimarti de Pini. Op. Cit.)

El polvo negro revelador o negro de humo, se obtiene al quemar el gas natural con una cantidad limitada de aire, de modo que se produzca la máxima cantidad de humo, el gas se

---

<sup>32</sup> Nieto Alonso, J. (2º Ed.). (2002). "Apuntes de Criminalística". Editorial: Tecnos Pág. 49.

<sup>33</sup> Alegretti J. Brandimarti de Pini N. (2007). "Tratado de Papioscopia". Ediciones: La Rocca Pág. 227-241.

quemado debajo de una placa de hierro giratoria y refrigerada con agua, de la que se rasca el hollín depositado. También se produce negro de humo, quemando trementina, petróleo, alquitrán y aceites grasos. El negro de humo es una de las variedades más puras de carbón amorfo.<sup>34</sup>

### Solución desinfectante a base de yodo

Las sustancias desinfectantes son compuestos químicos que tienen la característica de matar y reducir los efectos de los virus y bacterias que provocan las infecciones. Cuando entran en contacto con los agentes patógenos, los desinfectantes reducen su presencia, los matan o simplemente los inactivan. Principalmente se emplea para tratar cortes menores en la piel.

Uno de los elementos químicos utilizados en procesos de desinfección es el *yodo*.

El yodo es un elemento químico perteneciente al grupo de los halógenos. Al igual que los demás halógenos, el yodo tiende a formar moléculas de dos átomos, o diatómicas. En este caso, forma moléculas de diyodo. El diyodo suele aplicarse, por ejemplo, en la tintura de yodo o la povidona de yodo, ambas sustancias son desinfectantes.

### **Povidona Iodo**

Se denomina *povidona*, *polividona yodada* o *iodopolivinilpirrolidona* a los productos formados por una solución de *povidona* y *yodo molecular*, generalmente en un 10 %.

La povidona (polivinilpirrolidona, abreviado PVP) es un polímero soluble en agua y fisiológicamente aceptable tanto para los seres humanos como para otros animales; es capaz de combinarse con el yodo y de esta manera volverlo soluble.

Las formas comerciales más conocidas de la povidona yodada reciben el nombre de *Topionic*<sup>®</sup>, *Isodine*<sup>®</sup> y *Betadine*<sup>®</sup>, en Argentina la marca comercial de mayor renombre es *Pervinox*<sup>®</sup>.

### Otros contaminantes

---

<sup>34</sup> <http://www.textoscientificos.com/quimica/carbono>

Por la naturaleza del lugar donde muchas veces son trasferidas las manchas de sangre, en la dinámica de un hecho sospechoso de criminalidad, en reiteradas oportunidades ingresan al Laboratorio de Química Legal, muestras hemáticas impregnadas sobre restos terrosos o mezcladas sobre la superficie de metales que contienen restos de óxidos, es por ello que se incluyen como posibles contaminantes en el presente trabajo.

### **Restos terrosos**

El diccionario de la Real Academia Española, en su primera acepción, define el vocablo *suelo* como “superficie de la tierra”. Su formación es el resultado del desgaste natural de minerales, rocas y plantas en descomposición.

La Ingeniera María Cecilia Regairaz publicó en el año 2009 una investigación en el Catalogo de Recursos Humanos e Información relacionada con la temática Ambiental en la Región Andina Argentina lo que a continuación se expone:

Las características propias de cada tipo de suelo responden, en gran parte, a las características mineralógicas que heredaron de las rocas originarias, pero también es importante la influencia de otros factores de formación como lo son el clima, los organismos, el relieve y el tiempo transcurrido que tuvieron sobre los materiales iniciales.

Los suelos mendocinos son, casi en su totalidad, derivados de materiales originarios provenientes de la erosión de las rocas cordilleranas que no han sufrido modificaciones en el sitio donde fueron depositados luego de ser transportados por distintos agentes como eólico (viento), coluvial (gravedad), aluvional (agua) y glacio – lacustre (glaciares y antiguas lagunas).

De los relevamientos edafológicos realizados en la provincia de Mendoza, elaborado con los datos de I.N.T.A., 1990, se han encontrado en la provincia los siguientes datos con relación al clima del suelo:

Existen casi todos los regímenes: arídico (hay marcado déficit de humedad en el suelo durante la mayor parte del año), ústico (hay un déficit moderado y las precipitaciones son

monzónicas), xérico (déficit moderado y las precipitaciones son invernales), údico (no hay déficit sino un excedente moderado de agua en el perfil del suelo) y suelos con drenaje pobre o régimen ácuico (el suelo está saturado con agua). El régimen arídico, afecta a la mayor parte del territorio provincial.

Hacia el oeste se produce un gradiente de mayor humedad (arídico-ústico-údico) debido al efecto orográfico de los cordones montañosos. Esta mayor disponibilidad de agua hacia el sector occidental es claramente observable por la variación de la cobertura vegetal en imágenes satelitales, por ejemplo: hacia el oeste se evidencia aumento en el contenido de materia orgánica, disminución o lixiviación de carbonato de calcio y otras sales más solubles, aumento de las propiedades ándicas, etc.

Por otro lado, cabe mencionar que por Mendoza pasa la diagonal que separa en Argentina las provincias con precipitaciones estivales, de las invernales y en la mayor parte del territorio provincial la temperatura media anual del suelo es de 15 a 22°C.

### **Restos de óxido (herrumbre)**

Siguiendo la definición dada en el diccionario de la Real Academia Española, define el vocablo *herrumbre* como: Óxido del hierro.

Por otro lado define *corrosión*: dentro del ámbito de la química como: Destrucción paulatina de los cuerpos metálicos por acción de agentes externos, persista o no su forma.

La corrosión es el desgaste total o parcial que disuelve o ablanda cualquier sustancia por reacción química o electroquímica con el medio ambiente. El término corrosión se aplica a la acción gradual de agentes naturales, como el aire o el agua salada sobre los metales.

El ejemplo más familiar de corrosión es la oxidación del hierro, que consiste en una compleja reacción química en la que el hierro se combina con oxígeno y agua para formar óxido de hierro hidratado. Este óxido, conocido como orín o herrumbre, es un sólido que

mantiene la misma forma general que el metal del que se ha formado, pero con un aspecto poroso, algo más voluminoso, y relativamente débil y quebradizo.<sup>35</sup>

Decimos entonces que la corrosión es un proceso natural, en el cual se produce una transformación del elemento metálico a un compuesto más estable, que es un óxido.

Generalmente se usa el término “oxidación” o “herrumbramiento” para indicar la corrosión del hierro y de aleaciones en las que éste se presenta como el metal base, que es una de las más comunes.

De todas las formas de corrosión, la *Atmosférica* es la que produce mayor cantidad de daños en el material y en mayor proporción. Grandes cantidades de metal de automóviles, puentes o edificios están expuestas a la atmósfera y por lo mismo se ven atacados por oxígeno y agua. La severidad de esta clase de corrosión se incrementa cuando la sal, los compuestos de sulfuro y otros contaminantes atmosféricos están presentes.<sup>36</sup>

## SOPORTE

En la escena de un hecho criminal, pueden encontrarse manchas de sangre sobre una gran cantidad de superficies o soportes, tales como tela, madera, tierra, cerámica, papel, metales, etc. En la presente investigación se decidió trabajar con tela de jeans, elegida por ser uno de los soportes más frecuentes de hallar las manchas hemáticas en las prendas de los presuntos autores y/o víctimas, ya sea en pantalones o en prendas de abrigo como camperas.

### Textil<sup>37</sup>

Textil, término genérico (derivado del latín *texere*, ‘tejer’) aplicado originalmente a las telas tejidas, pero que hoy se utiliza también para filamentos, hilazas e hilos sintéticos, así como para los materiales tejidos, hilados, fieltros, acolchados, trenzados, adheridos, anudados o bordados que se fabrican a partir de los mismos. También se usa para referirse a telas no tejidas producidas mediante la unión mecánica o química de fibras.

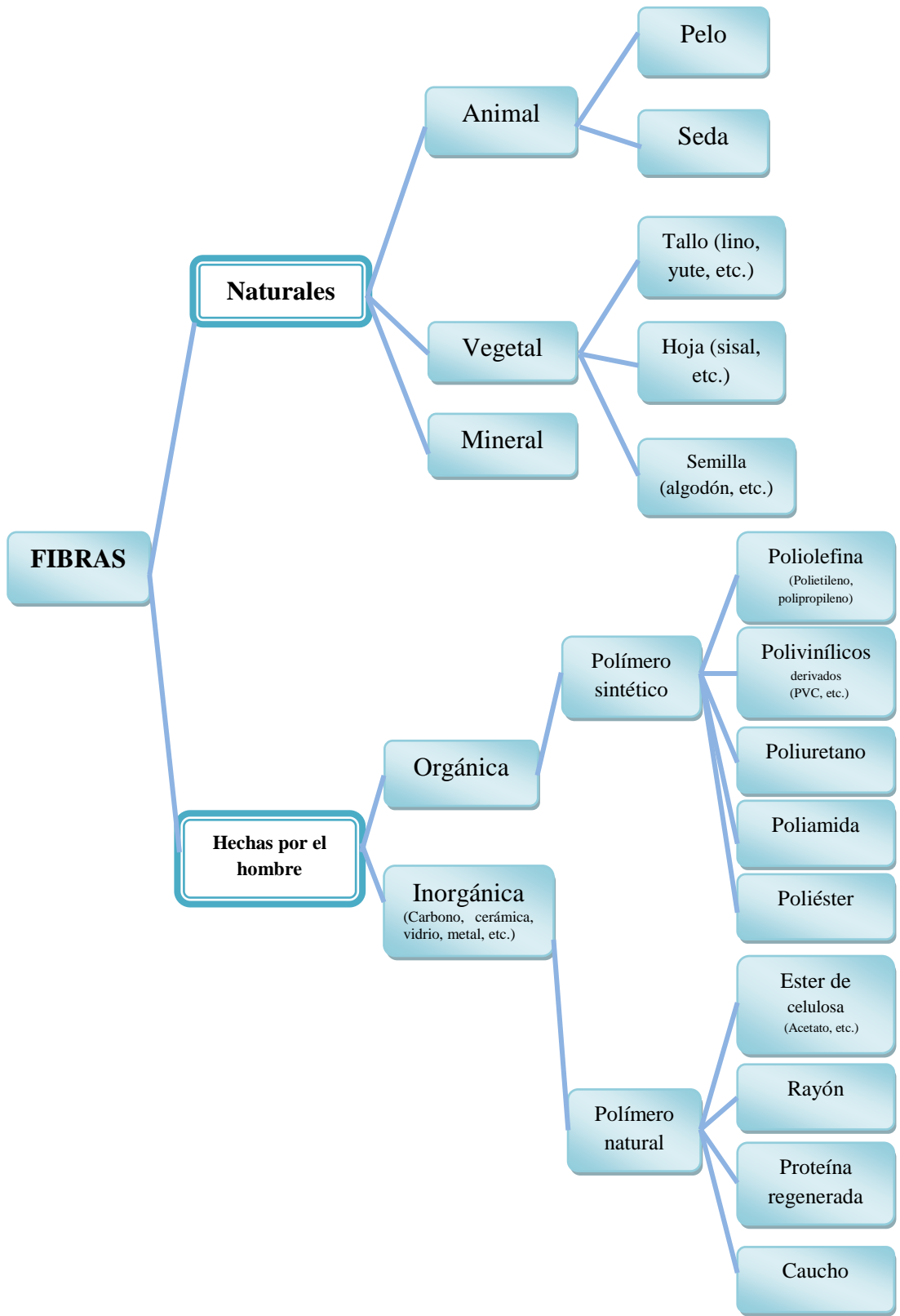
---

<sup>35</sup> "Corrosión." Microsoft® Encarta® 2009 [DVD]. Microsoft Corporation, 2008.

<sup>36</sup> <http://www.textoscientificos.com/quimica/corrosion/tipos>.

<sup>37</sup> "Textiles" Microsoft® Encarta® 2009 [DVD]. Microsoft Corporation, 2008.

Las fibras textiles que componen las telas se clasifican en:



Clasificación de las fibras de interés para la Ciencia Forense<sup>38</sup>

<sup>38</sup> Jackson A. and Jackson J. Forensic Science.

### ¿Cómo se fabrica una tela?<sup>39</sup>

La primera etapa en la fabricación de textiles implica la producción de la materia prima, ya sea el cultivo de algodón, lino u otras plantas, la cría de ovejas o gusanos de seda, o la producción química de fibras.

A continuación, la fibra se hila, proceso llamado Hilado.

Para obtener hilo a partir de filamentos continuos basta torcerlos, pero en el caso de las fibras cortas hay que cardarlas para combinar las fibras en una estructura continua semejante a la de una cuerda, peinarlas para estirar las fibras largas y torcer las hebras continuas resultantes. El torcer más o menos los hilos determina algunas de sus características; una torsión ligera proporciona telas de superficie suave, mientras que los hilos muy torcidos producen tejidos de superficie dura, resistentes a la abrasión.

Posteriormente se usa el hilo para tejer las telas. En este proceso llamado tejido, para tejer se utiliza el telar y dos conjuntos de hilos, denominados respectivamente urdimbre (o pie) y trama. Los hilos de la urdimbre van a lo largo del telar, mientras que los de la trama van en dirección transversal. La urdimbre está arrollada en enormes bobinas, situadas a los pies del telar, y se enhebra en el telar formando una serie de hilos paralelos. La trama se suministra por los lados del telar desde unas bobinas que se cambian automática o manualmente cuando se acaba el hilo. La lanzadera del telar hace pasar los hilos de la trama a través del telar, entrelazándolos perpendicularmente con la urdimbre. Modificando el número de hilos de la urdimbre y alterando la secuencia con la que se levanta o se bajan se logran diferentes dibujos y texturas.

Los textiles pueden teñirse de distintas formas: las telas pueden colorearse una vez tejidas (tinte en la pieza), pueden teñirse las fibras sueltas en una cuba (tinte en bruto) y, por último, puede teñirse el hilo o filamento antes de tejerlo (tinte en el hilo). Los hilos sintéticos también pueden recibir un tinte previo incorporando pigmentos coloreados en la solución de hilado antes de extruir los filamentos a través de las boquillas de hilatura (tinte en masa o solución).

---

<sup>39</sup> "Textiles" Microsoft® Encarta® 2009 [DVD]. Microsoft Corporation, 2008.

También se puede estampar dibujos en textiles por medio de huecograbado o por impresión en relieve; donde el dibujo está elevado sobre la superficie del rodillo, entre otros métodos de estampado.

Finalmente está el *Acabado* para mejorar su aspecto y cualidades, mediante diversos tratamientos químicos también es posible mejorar la resistencia al encogido, a las manchas y a la suciedad. Otros procesos de acabado protegen contra el deslizamiento de los hilos o contra los daños provocados por el moho, las polillas o el fuego.

### Composición de la mezclilla

En la presente investigación se utilizó tela de mezclilla, comúnmente conocida como tela de jeans, la cual se describe a continuación.

La verdadera mezclilla es tela de algodón, fabricada con diferentes colores de hilo, tanto en la trenza (urdimbre) como en la trama. También puede ser denominada dril de algodón debido a su construcción asargada (tejido en diagonal), finalmente predomina un color. El más conocido es el azul índigo (Denim en inglés; de ahí que también se la llame tela Denim), y otros como el azul de Vergara.

La trama es de color blanca y la urdimbre está teñida de azul, o como en este caso de color negro.

Hoy en día el tejido de mezclilla se mezcla con otro tipo de fibras, fibras sintéticas como el spandex y/o el poliéster. De esta manera se clasifica la mezclilla, por sus variaciones en la composición. En este caso se utilizó mezclilla 100% algodón.

Las plantas de algodón, son una especie de arbustos de la familia de las malváceas, que es un tipo de planta herbácea o leñosa, que se da en las regiones tropicales o subtropicales.

De esta planta se obtienen fibras textiles de algodón las cuales están compuestas cada una por 20 0 30 capas de celulosa, enrolladas en una serie de resortes naturales. El color de las mismas puede ser: blanco, amarillo pálido o ligeramente rojizo. Son fibras fuertes en mayor o menor grado y su longitud y grosor variables.

Las telas de algodón se caracterizan por durabilidad, resistencia y absorción.



# CAPÍTULO V

## OBJETIVOS DE TRABAJO

En esta labor investigativa el *objetivo general* consisten en:

“Determinar cuál de los productos obtuvo los resultados más favorables en la detección de sangre humana oculta en un estudio comparativo.”

Por ello con esta determinación se pretende conseguir una mayor orientación de cuál de los kits comerciales es el adecuado utilizar ante manchas hemáticas con contaminaciones forenses habituales.

Para lo cual se deben de tener en cuenta los siguientes *objetivos específicos*:

- Establecer el desempeño de la prueba inmunocromatográfica para la detección de sangre oculta del kit comercial Hem – Check -1 - (cassette) de la firma Veda Lab., utilizado en el Laboratorio de Química Legal del Departamento de Policía Científica de la Provincia de Mendoza, frente a contaminaciones forenses más frecuentes.
- Establecer el desempeño de la prueba inmunocromatográfica para la detección de sangre oculta del kit comercial Acon, (tiras) de la firma Acon Biotech SRL utilizado en el Laboratorio de Química Legal del departamento de Policía Científica de la Provincia de Mendoza, frente a contaminaciones forenses más frecuentes.

Teniendo planteados los objetivos se plantean las siguientes preguntas de investigación:

- ¿Influyen las contaminaciones que se producen en el soporte para la determinación de la presencia de tejido hemático?
- ¿Difieren los resultados obtenidos dependiendo del kit utilizado?
- ¿Se alteran los resultados al variar los tiempos o forma de procesamiento de las muestras?

## HIPÓTESIS DE TRABAJO

La hipótesis de trabajo planteada es la siguiente:

“Si se validan y comparan el comportamiento de las pruebas inmunocromatográficas para la detección de sangre oculta de los kits comerciales Hem – Check -1, de la firma Veda Lab y Acon, de la firma Acon Biotech SRL frente a contaminaciones forenses frecuentes, entonces se podrá establecer cuál sería el más adecuado para la utilización en el Laboratorio de Química Legal del Departamento de Policía Científica de la Provincia de Mendoza Argentina”.

### Variables de estudio:

Las variables de la hipótesis de investigación<sup>40</sup> utilizada en el presente estudio son del tipo cualitativas:

- *Variable independiente:* Es la que se considera como supuesta “causa”, en una relación entre variables, es la condición antecedente y la que se manipula. En este trabajo de investigación son: los contaminantes de las muestras, modos y tiempos de procesamientos de las mismas.
- *Variable dependiente:* Es el “efecto” provocado por dicha causa y que se puede modificar mediante la manipulación de la variable independiente. En este caso es el resultado positivo o negativo obtenido con cada uno de los kits empleados.

---

<sup>40</sup> Hernández Sampieri R. “Metodología de la investigación”. Editorial: Mc Graw Hill Pág. 131 - 132.



# CAPÍTULO VI

## METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN

### TIPO DE ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN

El diseño metodológico que se utilizó en esta tesina, es el **experimental**, según lo definido por Sampieri<sup>41</sup>, describe la experimentación de la siguiente manera:

“se manipulan deliberadamente una o más variables independientes (aparentes causas) para analizar las consecuencias de esa manipulación sobre una o más variables dependientes (aparentes efectos) dentro de una situación de control”.

Además manifiesta que:

“Un experimento se lleva a cabo para analizar si una o más variables independientes afectan a una o más variables dependientes y porque las afectan”.

### INSTRUMENTOS Y MATERIALES UTILIZADOS

Para la experimentación se utilizaron los siguientes instrumentos y materiales:

- Tela de mezclilla (jeans) color negro, en cuadrados de 10mm.
- Tijeras metálicas.
- Pinzas metálicas.
- Algodón hidrófilo.
- Guantes de látex descartables.
- Jeringas de 10ml. y agujas hipodérmica.
- Cajas de Petri descartables.
- Aspersor plástico de 250cc.
- Probeta de 250cc.
- Micropipeta automática.

---

<sup>41</sup> Hernández Sampieri R. (1990). “Metodología de la investigación”. Editorial: Mc Graw Hill Pág. 109.

- Cámara fotográfica marca “Kodak Easy Share C813” de 8,2 mega pixel`s.
- Marcador permanente.
- Programas informáticos.

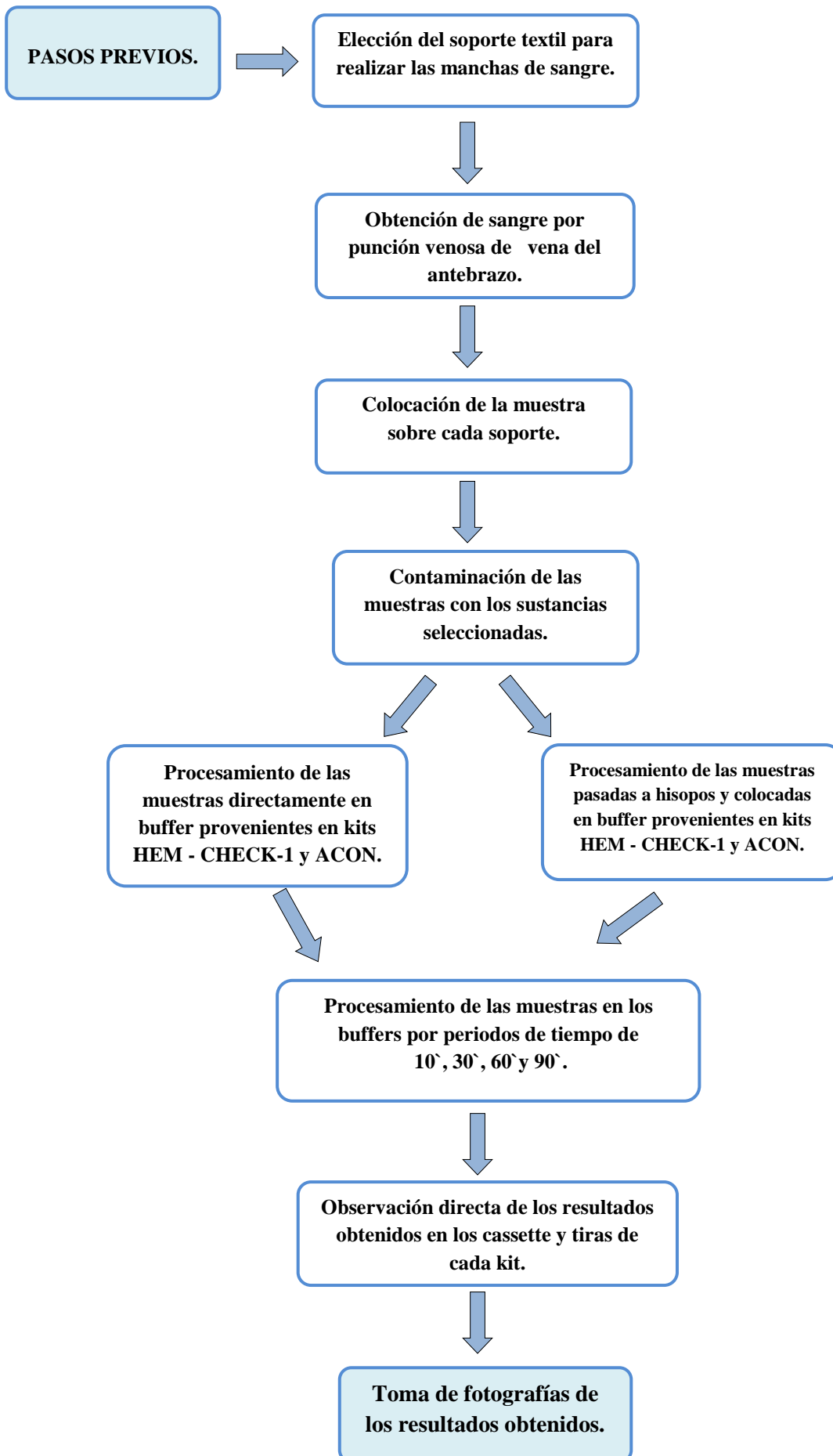
## **REACTIVOS Y/O SUSTANCIAS EMPLEADOS**

- Sangre humana.
- Solución fisiológica al 85%.
- Kit sangre oculta especie humana: Hem-Chek-1 de la firma comercial Vedalab.
- Kit sangre oculta especie humana: Acon de la firma comercial Acon Biotech.
- Bluestar forensic free, (reactivo a base de luminol):
  - Una pastilla de color blanca que contiene úrea (catalizador).
  - Una pastilla de color beige que contiene peróxido de hidrógeno (reactivo).
  - Agua destilada 125 ml.
- Solución Povidona Iodo, de la marca comercial “Pervinox”.
- Polvo negro (revelador de huellas dactilares).
- Restos terrosos.
- Herrumbre.

## **PROCEDIMIENTO**

El proceso de experimentación se llevó a cabo en el Laboratorio de Química Legal del Departamento de Policía Científica, por contar con las instalaciones adecuadas para llevar adelante el desarrollo del presente trabajo.

Esta experimentación se encuentra diagramada en el siguiente esquema, el cual es explicado en los párrafos subsecuentes:

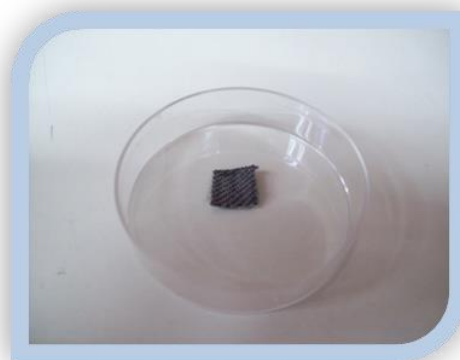


Para dar inicio a la presente experimentación, se realizaron los siguientes pasos previos: elección de materiales, selección de instrumental necesario y definición de parámetros de estudio.

El trabajo se inició realizando una revisión de diferentes casos que frecuentemente ingresan al Laboratorio de Química Legal del Departamento de Policía Científica, estableciéndose que la tela de mezclilla (jeans), es uno de los soportes textiles más habituales y con un gran grado de complejidad para la determinación de manchas de sangre, por tal motivo fue el seleccionado para ser analizado.

### I. Soporte:

Primeramente se tomaron fragmentos de tela de 10 (diez) milímetros por 10 (diez) milímetros, (se optó por este tamaño, debido a que es la medida promedio que se maneja en las muestras para la determinación de sangre humana, en el Laboratorio de Química Legal, aunque en ocasiones el tamaño de la mancha encontrada puede ser aún menor).



**Fragmento de tela de mezclilla (jeans)  
de 10mm x 10mm.  
Fuente: *Elaboración Propia***

### II. Muestra:

La sangre empleada para la realización de las manchas fue obtenida por punción venosa de la vena del antebrazo, extraída voluntariamente a dos mujeres mayores de edad en buen estado de salud, por medio de jeringa con aguja hipodérmica. Cabe destacar que la sangre utilizada *no posee anticoagulante*, con la finalidad de poder simular manchas hemáticas de un hecho criminal real.

### III. Manchado del soporte:

Inmediatamente después de extraído el tejido hemático de las donantes y previo a tener los 80 (ochenta) fragmentos de tela cada uno de ellos en una caja de Petri se procedió a mancharlos con 100 (cien) microlitros de sangre, colocados con el empleo de micropipeta automática.



**Fragmento de tela de mezclilla (jeans)  
manchados con 100µl de sangre.  
Fuente: *Elaboración Propia***

#### IV. Secado de las manchas:

Una vez colocado el tejido hemático sobre el soporte de tela de mezclilla se procedió a dejarlas secar por un periodo de 24 (veinticuatro) horas, a temperatura ambiente.

#### V. Tratamientos empleados:

Seguidamente se contaminó cada uno de los soportes de tela de mezclilla, con los posibles interferentes empleados, dependiendo del contaminante utilizado fue la metodología empleada para manchar el soporte de tela que ya contenía el tejido hemático:



**Contaminantes empleados en la experiencia.**  
Fuente: *Elaboración Propia*

##### 1. ***Bluestar Forensic Free:***

Para las muestras hemáticas contaminadas con este reactivo quimioluminiscente, a base de luminol, como se enuncio anteriormente sensible para detectar tanto manchas de sangres recientes o antiguas, alteradas, diluidas o puras.

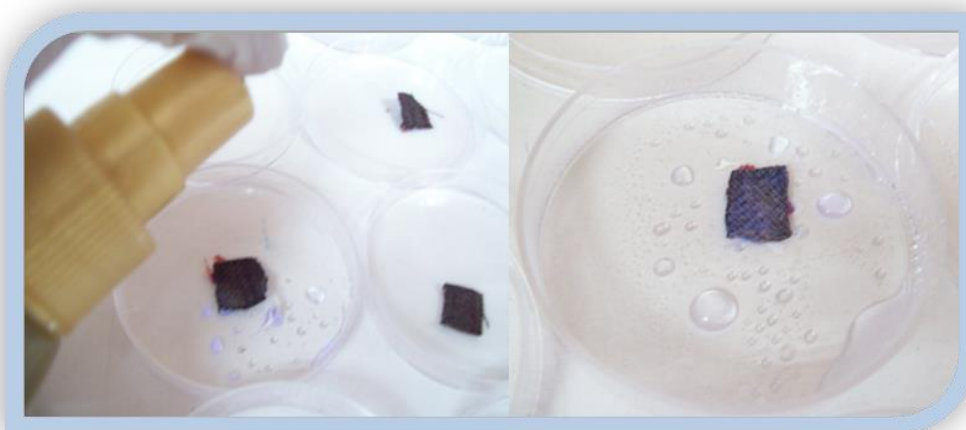
En este caso se analizaron manchas de sangres recientes, no diluidas con la finalidad de poder establecer si el reactivo contaminante interfiere con el resultado obtenido por los kits inmunocromatográficos empleados.

El contaminante se procedió a prepararlo conforme las indicaciones del producto, tomando las dos pastillas que vienen en el sobre, una pastilla color beige (reactivo) y una pastilla color blanca (catalizador). A las que se diluyo en 125ml. de agua destilada.



**Preparación del reactivo Bluestar Forensic Free.**  
**Fuente: *Elaboración Propia***

Una vez preparado el reactivo se colocó en un aspersor, y se realizó una aspersión sobre 16 (dieciséis) fragmentos de tela de mezclilla lo cuales ya poseían tejido hemático.



**Soporte de tela mezclilla contaminado con  
aspersión de Bluestar Forensic Free.**  
**Fuente: *Elaboración Propia***

## 2. *Polvo Negro:*

A las 16 (dieciséis) muestras contaminadas con polvo negro, empleado para revelar huellas dactilares, la forma de contaminar los soportes de tela de mezclilla fue colocándolos en un recipiente que contenía el polvo ejerciendo una leve presión sobre los mismos para contaminar la tela.



Soporte de tela mezclilla contaminado ejerciendo presión sobre Polvo Negro.  
Fuente: *Elaboración Propia*

## 3. *Povidona Iodo:*

En el caso de las 16 (dieciséis) muestras tratadas con Povidona Iodo (nombre comercial Pervinox), se colocaron dos gotas sobre el soporte que contenía el tejido hemático.



Soporte de tela mezclilla contaminado con dos gotas de Povidona Iodo.  
Fuente: *Elaboración Propia*

#### 4. *Restos terrosos:*

En este caso los 16 (dieciséis) soportes contaminados con restos terrosos, fueron tratados de igual forma que en el caso del polvo negro, ejerciendo presión sobre ellos para así contaminarlos.



Soporte de tela mezclilla contaminado ejerciendo presión sobre Tierra.  
Fuente: *Elaboración Propia*

#### 5. *Herrumbre:*

Las 16 (dieciséis) muestras restantes, para hacer un total de 80 muestras analizadas, fueron procesadas con Herrumbre (restos de óxido), obtenido de clavos embebidos en agua, los soportes de tela de mezclilla fueron contaminados, colocándoles sobre la mancha hemática, dos gotas del agua herrumbrada.

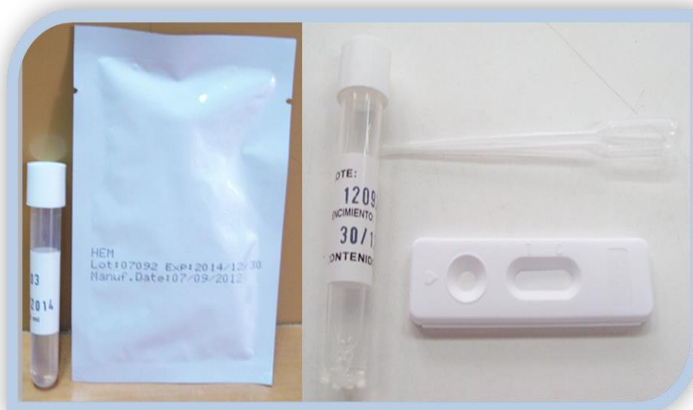


Soporte de tela mezclilla contaminado con dos gotas de Herrumbre.  
Fuente: *Elaboración Propia*

## VI. CONTROLES POSITIVO Y NEGATIVO

Previo a procesar las muestras hemáticas contaminadas se realizaron con cada kit comercial los controles positivo y negativo de los mismos. Entendiéndose de esta manera que la presencia de tejido hemático humano es un resultado positivo y la ausencia de este es un resultado negativo.

- Kit HEM-CHECK-1: Ilustración del kit inmunocromatográfico.



**Kit inmunocromatográfico HEM – CHECK-1**  
de la firma comercial Veda Lab.  
Fuente: *Elaboración Propia*

Resultados marcados en el cassette proveniente en el kit comercial Hem – Check-1

<b>KIT INMUNOCROMATOGRÁFICO HEM-CHECK-1</b>	
<b>POSITIVO</b>	
<b>NEGATIVO</b>	

Control positivo: Se tomó sangre entera humana sin anticoagulante.



Control negativo: Se tomó buffer de extracción que viene en cada uno de los kits estudiados.

- Kit ACON: Ilustración del kit inmunocromatográfico.



Kit inmunocromatográfico ACON de la firma comercial Acon Biotech.  
Fuente: *Elaboración Propia*

Resultados marcados en la tira proveniente en el kit comercial Acon

KIT INMUNOCROMATOGRÁFICO ACON	
<b>POSITIVO</b>	
<b>NEGATIVO</b>	

Control positivo: Se tomó sangre entera humana sin anticoagulante.

Control negativo: Se tomó buffer de extracción que viene en cada uno de los kits estudiados.

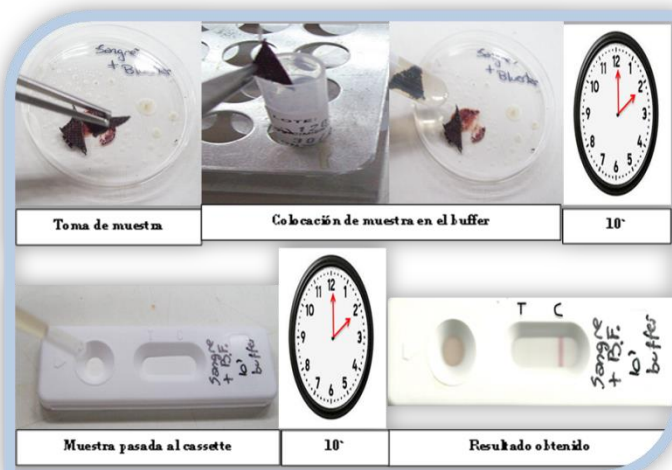
VII. Determinación de especie humana kit HEM - CHECK-1(Muestras procesadas directamente – trozo de tela):

**+ Procesamiento de las muestras contaminadas:**

Las muestras de tejido hemático realizadas sobre fragmentos de tela de mezclilla una vez contaminadas fueron procesadas directamente dentro del recipiente que contiene el buffer de extracción proveniente en el kit, para luego colocar unas gotas del mismo en el cassette; de esta forma establecer si los contaminantes o posibles interferentes (bluestar forensic free, polvo negro, povidona iodo, restos terrosos o herrumbre) empleados afectan o no la obtención de los resultados en el cassette.

Dichas muestras fueron dejadas dentro del buffer de extracción por periodos de tiempo de 10 (diez), 30 (treinta), 60 (sesenta) y 90 (noventa) minutos con cada uno de los contaminantes utilizados.

En cada caso se realizaron tomas fotográficas las cuales posteriormente serán utilizadas para la recolección de datos. A continuación se muestra fotografía a modo ilustrativo de una de las muestras procesadas.



**Procesamiento trozo de tela con contaminante  
procesada con kit Hem – Check-1.  
Fuente: *Elaboración Propia***

VIII. Determinación de especie humana kit ACON (Muestras procesadas directamente – trozo de tela):

**+ Procesamiento de las muestras contaminadas:**

En este caso las muestras de tejido hemático realizadas sobre fragmentos de tela de mezclilla fueron procesadas de la misma manera que las anteriormente descritas. Utilizando el buffer de extracción proveniente en el kit Acon, colocando unas gotas del mismo en el tubo contenedor donde se coloca la tira inmunocromatográfica, para evaluar si los contaminantes o posibles interferentes empleados afectan o no la obtención del resultado.

Dichas muestras fueron dejadas dentro del buffer de extracción los mismos periodos de tiempo descriptos.

Se realizaron tomas fotográficas que posteriormente serán utilizadas para la recolección de datos. A continuación se muestra fotografía a modo ilustrativo de una de las muestras procesada.

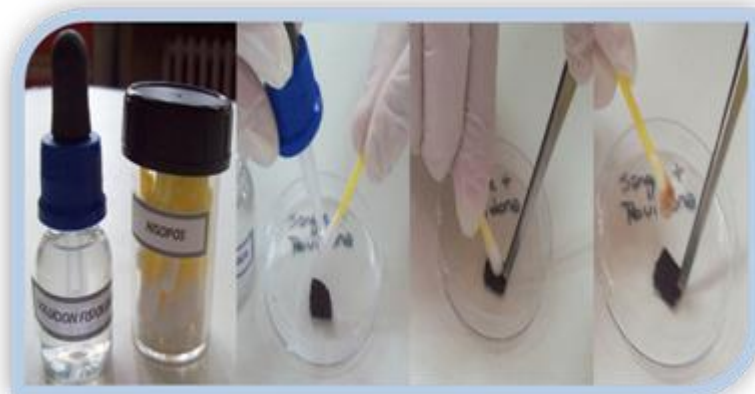


**Procesamiento trozo de tela con contaminante procesada con kit Acon.**  
Fuente: *Elaboración Propia*

IX. Determinación de especie humana kit HEM - CHECK-1 (Muestras procesadas indirectamente – pasadas a hisopo):

**✚ Procesamiento de las muestras contaminadas:**

En esta ocasión las muestras de tejido hemático realizadas sobre fragmentos de tela de mezclilla una vez contaminadas, empleando bluestar forensic free, polvo negro, povidona iodo, restos terrosos o herrumbre, fueron procesadas por medio de una técnica de extracción de la muestra, mediante el empleo de un hisopo embebido en solución fisiológica. Ver a continuación fotografía ilustrativa.

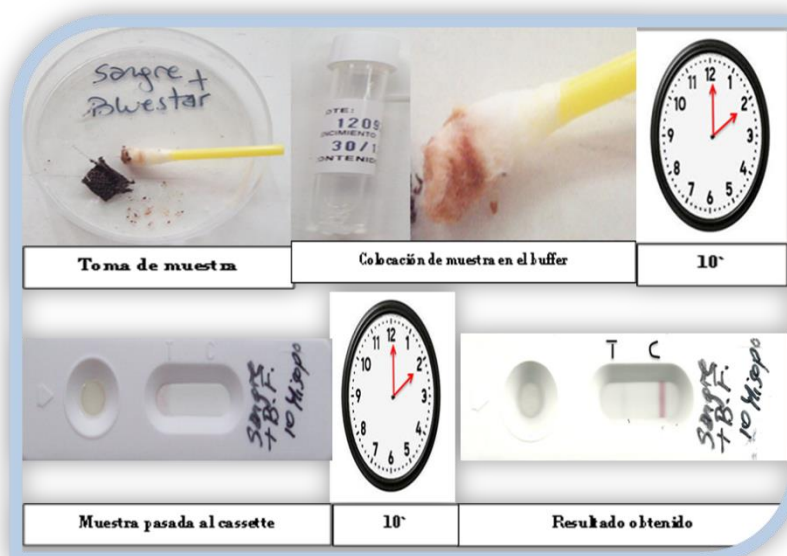


**Pasaje de la mancha contaminada a hisopo embebido en solución fisiológica.**  
Fuente: *Elaboración Propia*

A continuación se procede a colocar el hisopo dentro del recipiente que contiene el buffer de extracción proveniente en el kit, para luego colocar unas gotas del mismo en el cassette y observar el resultado para evaluar si los contaminantes empleados afectan o no la obtención del resultado.

Aquí las muestras también fueron dejadas dentro del buffer de extracción por periodos de tiempo de 10 (diez), 30 (treinta), 60 (sesenta) y 90 (noventa) minutos con cada uno de los contaminantes empleados.

Las tomas fotográficas realizadas posteriormente serán utilizadas para la recolección de datos. A continuación se muestra fotografía a modo ilustrativo de una de las muestras procesada.



**Procesamiento hisopo con muestra + contaminante procesada con kit Hem – Check-1.**  
Fuente: *Elaboración Propia*

X. Determinación de especie humana kit ACON (Muestras procesadas indirectamente – pasadas a hisopo):

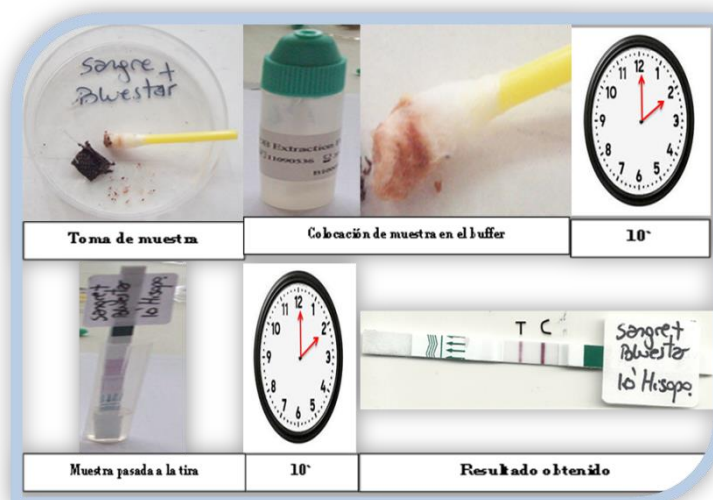
**✚ Procesamiento de las muestras contaminadas:**

Siguiendo el procesamiento de las muestras estas recibieron el mismo procesamiento que las descriptas en el punto anterior; los fragmentos de tela de mezclilla una vez contaminadas, fueron procesados por medio de una técnica indirecta de extracción de la mancha contaminada mediante el empleo de un hisopo embebido en solución fisiológica.

Una vez pasada la mancha al hisopo este se colocó en el buffer de extracción proveniente en el kit Acon, colocando posteriormente unas gotas del mismo en el tubo contenedor donde se coloca la tira inmunocromatográfica observando el resultado obtenido.

Dichas muestras fueron dejadas dentro del buffer de extracción los periodos de tiempo mencionados ut supra.

Las tomas fotográficas tomadas serán utilizadas para la recolección de datos. A continuación se muestra fotografía a modo ilustrativo de una de las muestras procesada.



**Procesamiento hisopo con muestra + contaminante  
procesada con kit Acon.  
Fuente: *Elaboración Propia***

Cabe mencionar que una vez contaminadas las muestras que ya poseían las manchas hemáticas se dejó transcurrir un lapso de 24 (veinticuatro) horas para empezar a procesarse con los kits inmunocromatográficos.

## INSTRUMENTO DE RECOLECCION DE DATOS

- Parámetros evaluados

En este estudio se analizaron manchas de tejido hemático humano sobre soporte de tela de mezclilla (jeans), con posibles contaminantes forenses, tales como, reactivo quimioluminiscente (Bluestar Forensic Free), reactivo revelador de huellas papilares (polvo negro revelador), solución desinfectante (povidona yodo), restos terrosos y herrumbre.

Para determinar la presencia de tejido hemático humano en estas manchas contaminadas se utilizaron dos kits inmunocromatográficos de diferentes marcas comerciales (Hem – Check-1 y Acon).

Se toman como parámetros a evaluar los tiempos de procesamiento de las muestras de sangre contaminadas; dejadas dentro del buffer de extracción proveniente en cada kit, siendo estos tiempos de 10 (diez), 30 (treinta), 60 (sesenta) y 90 (noventa) minutos.

Por otro lado se evaluó cómo reaccionan los kit empleados ante dichas muestras siendo procesadas: directamente; tomando el trozo de tela o tomando esa mancha en forma indirecta, es decir, pasando la muestra a un hisopo embebido en solución fisiológica para procesarlo y leer así el resultado en cada caso.

Para esto se confeccionaron dos planillas estadísticas, una para cada kit empleado, las cuales tienen las variables o parámetros a analizar.







# CAPÍTULO VII

## DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

En primer lugar es oportuno destacar que las muestras procesadas en el presente trabajo de investigación son en todos los casos, realizadas con manchas de tejido hemático humano, a las que en una segunda fase de preparación del soporte o sustrato utilizado y previo a ser analizadas con los kits específicos para especie humana, fueron contaminadas con diferentes sustancias, frecuentes en el ámbito forense.

Por tratarse de ensayos inmunocromatográficos específicos para especie humana, partimos de la base de que en todos los casos debería darnos un resultado *Positivo*, interpretado como presencia de tejido hemático humano en la muestra.

Se comienza analizando los resultados obtenidos con cada kit inmunocromatográfico, con las muestras procesadas durante diferentes tiempos de extracción en su respectivo buffer, para cada contaminante.

- **Resultados obtenidos con ambos ensayos inmunocromatográficos**
  - o Muestras analizadas con ensayo inmunocromatográfico Hem – Check-1

Los resultados obtenidos con el kit pueden ser *Negativo*: Cuando se observa una sola línea de color rosado del lado derecho, línea de *Control* (C).

El resultado es *Positivo*: Cuando se observan dos líneas de color rosado, una a la derecha del cassette, línea *Control* (C) que indica que en el mismo funciona correctamente y una línea a la izquierda, línea del *Test o Prueba* (T), indicando la presencia de tejido hemático humano en la muestra.

En el presente trabajo de investigación a este resultado *Positivo*, se lo subclasificó designándole cruces a cada resultado, interpretándose como *Positivo (1+)*, una cruz a la menor coloración de la línea de *Test o Prueba* (T) y como *Positivo (3+)* tres cruces a la mayor intensidad de la línea del *Test o Prueba* (T), particularmente por tratarse de muestras hemáticas, que han sido mezcladas con algunos de los contaminantes más frecuentemente hallados en un hecho delictivo.

A continuación observaremos una tabla que indica los resultados obtenidos con este kit.

MUESTRAS PROCESADAS CON KIT HEM CHECK-1			
Control	Soporte	Muestra + Contaminante	Resultado
Positivo	---	Sangre humana	
Negativo	---	Buffer	
Tiempo de extracción de la muestra en el buffer			
10`	Trozo tela	Sangre + Bluestar	Negativo
	Hisopo	Sangre + Bluestar	Positivo (2+)
	Trozo tela	Sangre + Polvo Negro	Negativo
	Hisopo	Sangre + Polvo Negro	Positivo (2+)
	Trozo tela	Sangre + Povidona Iodo	Negativo
	Hisopo	Sangre + Povidona Iodo	Positivo (2+)
	Trozo tela	Sangre + Tierra	Negativo
	Hisopo	Sangre + Tierra	Positivo (2+)
	Trozo tela	Sangre + Herrumbre	Negativo
	Hisopo	Sangre + Herrumbre	Positivo (2+)
30`	Trozo tela	Sangre + Bluestar	Positivo (1+)
	Hisopo	Sangre + Bluestar	Positivo (2+)
	Trozo tela	Sangre + Polvo Negro	Negativo
	Hisopo	Sangre + Polvo Negro	Positivo (3+)
	Trozo tela	Sangre + Povidona Iodo	Negativo
	Hisopo	Sangre + Povidona Iodo	Positivo (2+)
	Trozo tela	Sangre + Tierra	Negativo
	Hisopo	Sangre + Tierra	Positivo (3+)
	Trozo tela	Sangre + Herrumbre	Negativo
	Hisopo	Sangre + Herrumbre	Positivo (2+)
60`	Trozo tela	Sangre + Bluestar	Positivo (2+)
	Hisopo	Sangre + Bluestar	Positivo (3+)
	Trozo tela	Sangre + Polvo Negro	Negativo
	Hisopo	Sangre + Polvo Negro	Positivo (3+)
	Trozo tela	Sangre + Povidona Iodo	Negativo
	Hisopo	Sangre + Povidona Iodo	Positivo (2+)
	Trozo tela	Sangre + Tierra	Positivo (1+)
	Hisopo	Sangre + Tierra	Positivo (3+)
	Trozo tela	Sangre + Herrumbre	Negativo
	Hisopo	Sangre + Herrumbre	Positivo (3+)
90`	Trozo tela	Sangre + Bluestar	Negativo
	Hisopo	Sangre + Bluestar	Positivo (3+)
	Trozo tela	Sangre + Polvo Negro	Negativo
	Hisopo	Sangre + Polvo Negro	Positivo (1+)
	Trozo tela	Sangre + Povidona Iodo	Negativo
	Hisopo	Sangre + Povidona Iodo	Positivo (3+)
	Trozo tela	Sangre + Tierra	Negativo
	Hisopo	Sangre + Tierra	Positivo (2+)
	Trozo tela	Sangre + Herrumbre	Negativo
	Hisopo	Sangre + Herrumbre	Positivo (2+)

Tabla # 1: Muestras procesadas con kit Hem Check-1.  
Fuente: *Elaboración Propia*

De la tabla # 1 se advierte en forma general que las muestras hemáticas procesadas en el buffer de extracción directamente desde el soporte de tela de mezclilla en el que fueron realizadas y contaminadas, durante periodos de extracción de 10 minutos y 90 minutos se obtuvo presencia de una sola línea de color rosado del lado derecho, la cual indica que el cassette funciona correctamente, línea de *Control* (C), interpretándose como *Negativo* en esos casos.

En el caso de los periodos de extracción de la muestra en las mismas condiciones en tiempos de 30 y 60 minutos se obtuvo una sola línea de color rosado, línea de *Control*, interpretada como *Negativo* en algunos casos, en muestras contaminadas con polvo negro, povidona yodo, restos terrosos y herrumbre en los 30 minutos de extracción y polvo negro, povidona yodo y herrumbre en los 60 minutos de extracción.

En estos periodos de tiempos de extracción en el buffer de 30 minutos para la muestra contaminada con bluestar forensic free y en tiempo de extracción de 60 minutos para las muestras contaminadas con bluestar forensic free y restos terrosos al ser leídos en el cassette se observan dos líneas de color rosado, una a la derecha del cassette, línea (C) que indica en el mismo funciona correctamente y una línea a la izquierda, línea del *Test o Prueba* (T), las cuales se observan muy difusas, interpretadas como *Positivo (1+)* y *(2+)*.

La presente tabla además nos permite visualizar que en el caso de las mismas muestras hemáticas contaminadas; procesadas indirectamente (pasadas a hisopo embebido en solución fisiológica), colocados en el buffer de extracción de la muestra para luego de los periodos de tiempo mencionados de 10, 30, 60 y 90 minutos obtener en el cassette dos líneas de color rosado, interpretadas a pesar de ser en algunos casos difusas *(1+)*, *(2+)* como *Positivo* y *Positivo (3+)* a las de mayor intensidad, sobre todos en los periodos de extracción de las muestras de 30 y 60 minutos.

- Muestras analizadas con ensayo inmunocromatográfico Acon

Las consideraciones generales para el ensayo inmunocromatográfico Acon, son las mismas que para el anterior descrito, con la diferencia de que en este kit el resultado es obtenido de una tira y no de un cassette, siendo la interpretación de los resultados exactamente la misma. A continuación observaremos una tabla que indica los resultados obtenidos con este kit.



MUESTRAS PROCESADAS CON KIT ACON			
Control	Soporte	Muestra + Contaminante	Resultado
Positivo	---	Sangre humana	
Negativo	---	Buffer	
Tiempo de extracción de la muestra en el buffer			
10`	Trozo tela	Sangre + Bluestar	Positivo (2+)
	Hisopo	Sangre + Bluestar	Positivo (3+)
	Trozo tela	Sangre + Polvo Negro	Positivo (1+)
	Hisopo	Sangre + Polvo Negro	Positivo (3+)
	Trozo tela	Sangre + Povidona Iodo	Negativo
	Hisopo	Sangre + Povidona Iodo	Positivo (2+)
	Trozo tela	Sangre + Restos Terrosos	Positivo (1+)
	Hisopo	Sangre + Restos Terrosos	Positivo (3+)
	Trozo tela	Sangre + Herrumbre	Positivo (3+)
	Hisopo	Sangre + Herrumbre	Positivo (3+)
30`	Trozo tela	Sangre + Bluestar	Positivo (2+)
	Hisopo	Sangre + Bluestar	Positivo (3+)
	Trozo tela	Sangre + Polvo Negro	Positivo (2+)
	Hisopo	Sangre + Polvo Negro	Positivo (3+)
	Trozo tela	Sangre + Povidona Iodo	Negativo
	Hisopo	Sangre + Povidona Iodo	Positivo (3+)
	Trozo tela	Sangre + Restos Terrosos	Positivo (2+)
	Hisopo	Sangre + Restos Terrosos	Positivo (3+)
	Trozo tela	Sangre + Herrumbre	Positivo (1+)
	Hisopo	Sangre + Herrumbre	Positivo (3+)
60`	Trozo tela	Sangre + Bluestar	Positivo (1+)
	Hisopo	Sangre + Bluestar	Positivo (3+)
	Trozo tela	Sangre + Polvo Negro	Negativo
	Hisopo	Sangre + Polvo Negro	Positivo (3+)
	Trozo tela	Sangre + Povidona Iodo	Negativo
	Hisopo	Sangre + Povidona Iodo	Positivo (2+)
	Trozo tela	Sangre + Restos Terrosos	Positivo (2+)
	Hisopo	Sangre + Restos Terrosos	Positivo (3+)
	Trozo tela	Sangre + Herrumbre	Positivo (1+)
	Hisopo	Sangre + Herrumbre	Positivo (3+)
90`	Trozo tela	Sangre + Bluestar	Positivo (2+)
	Hisopo	Sangre + Bluestar	Positivo (3+)
	Trozo tela	Sangre + Polvo Negro	Negativo
	Hisopo	Sangre + Polvo Negro	Positivo (2+)
	Trozo tela	Sangre + Povidona Iodo	Negativo
	Hisopo	Sangre + Povidona Iodo	Positivo (3+)
	Trozo tela	Sangre + Restos Terrosos	Positivo (1+)
	Hisopo	Sangre + Restos Terrosos	Positivo (3+)
	Trozo tela	Sangre + Herrumbre	Negativo
	Hisopo	Sangre + Herrumbre	Positivo (3+)

Tabla # 2: Muestras procesadas con kit Acon.  
Fuente: *Elaboración Propia*

Para este otro ensayo inmunocromatográfico la tabla # 2 pone de manifiesto en lineamientos generales que las muestras hemáticas procesadas en el buffer de extracción directamente desde el soporte de tela de mezclilla en el que fueron realizadas y contaminadas, durante los cuatro periodos de extracción de 10, 30, 60 y 90 minutos se obtuvo presencia de una sola línea de color rosado del lado derecho, indicando que la tira funciona correctamente, marcando línea de *Control* (C) e interpretándose como *Negativo* únicamente en algunos casos puntuales como se observa en el caso la muestra contaminada con povidona yodo en todos los tiempos de extracción del buffer, como así también las muestras contaminadas con polvo negro en periodos de extracción de 60 y 90 minutos y la muestra contaminada con herrumbre en periodo de extracción de la misma en buffer de 90 minutos.

En el resto de las muestras procesadas directamente desde el soporte de tela de mezclilla contaminado al ser leídas en los cuatro tiempos de extracción en el buffer las tiras evidenciaron dos líneas de color rosado, una a la derecha de la tira, línea *Control* (C) que indica en el mismo funciona correctamente y una línea a la izquierda, línea del *Test o Prueba* (T), las cuales si bien se observaron muy difusas, (1+) y (2+), son interpretadas como *Positivo*.

De esta tabla también observamos que las muestras hemáticas contaminadas procesadas indirectamente (pasadas a hisopo embebido en solución fisiológica), colocados en el buffer de extracción de la muestra para luego de los periodos de tiempo mencionados de 10, 30, 60 y 90 minutos obtener en la tira dos líneas de color rosado, interpretadas como *Positivo* (2+) y (3+) líneas marcadas con mayor intensidad, que para el otro ensayo inmunocromatográficos.

**- Interpretación de resultados obtenidos por el modo de procesamiento y tiempos de extracción en buffer para cada muestra y contaminante**

○ Ensayo inmunocromatográfico Hem – Check-1: Muestra: Tejido hemático + Contaminante: Bluestar forensic free

En el caso de las muestras hemáticas contaminadas con reactivo quimioluminiscente: Bluestar forensic free, se obtuvo un resultado *Positivo* de procesamiento con las muestras contaminadas trabajándolas indirectamente (desde el hisopo) y con tiempos de extracción de la muestra en buffer de 60 y 90 minutos. Obteniéndose resultados poco satisfactorios al procesarlas directamente con el trozo de tela. Interpretados como *Negativo* en tiempos de extracción de las muestras de 10 y 90 minutos. En cuanto a los tiempos de extracción de 30 y 60 minutos los resultados fueron difusos, aunque *Positivos* (1+) y (2+). Conforme lo ilustra la tabla # 3 a continuación.

MUESTRAS PROCESADAS CON KIT HEM – CHECK-1				
MUESTRA: Tejido hemático + CONTAMINANTE: Bluestar forensic free				
Soporte	Tiempos de procesamiento en buffer			
	10`	30`	60`	90`
Trozo de tela	Negativo	Positivo (1+)	Positivo (2+)	Negativo
Hisopo	Positivo (2+)	Positivo (2+)	Positivo (3+)	Positivo (3+)

Tabla # 3: Kit Hem Check-1. Mtra.: T.H. + Cte.: Bluestar  
Fuente: *Elaboración Propia*

○ Ensayo inmunocromatográfico Acon: Muestra: Tejido hemático + Contaminante: Bluestar forensic free

Con el empleo de este ensayo inmunocromatográfico el resultado obtenido fue *Positivo*, tanto para las muestras procesadas indirectamente (desde hisopo) como las procesadas directamente (desde el fragmento de tela) aunque en este caso el resultado obtenido fue difuso. La tabla #4 a continuación ilustra lo expuesto.

MUESTRAS PROCESADAS CON KIT ACON				
MUESTRA: Tejido hemático + CONTAMINANTE: Bluestar forensic free				
Soporte	Tiempos de procesamiento en buffer			
	10`	30`	60`	90`
Trozo de tela	Positivo (2+)	Positivo (2+)	Positivo (1+)	Positivo (2+)
Hisopo	Positivo (3+)	Positivo (3+)	Positivo (3+)	Positivo (3+)

Tabla # 4: Kit Acon. Mtra.: T.H. + Cte.: Bluestar  
Fuente: *Elaboración Propia*

○ Ensayo inmunocromatográfico Hem – Check-1: Muestra: Tejido hemático + Contaminante: Polvo negro.

En este caso de las muestras de tejido hemático contaminadas con un reactivo revelador de huellas papilares, como lo es esta oportunidad el polvo negro los resultados a los que se arriba son *Positivos* para las muestras procesadas desde el hisopo, en todos los tiempos de extracción de las muestras a ser leídas en el cassette.

Ahora en el caso de las muestras procesadas directamente desde el trozo de tela el cassette proveniente en el inmunoensayo directamente no reacciona, lo que se interpreta como *Negativo*, sin importar el tiempo de extracción de las muestras a ser leídas en el cassette. Ver tabla # 5.

MUESTRAS PROCESADAS CON KIT HEM – CHECK-1				
MUESTRA: Tejido hemático + CONTAMINANTE: Polvo negro				
Soporte	Tiempos de procesamiento en buffer			
	10`	30`	60`	90`
Trozo de tela	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Hisopo	Positivo (2+)	Positivo (3+)	Positivo (3+)	Positivo (1+)

Tabla # 5: Kit Hem Check-1. Mtra.: T.H. + Cte.: Polvo Negro  
Fuente: *Elaboración Propia*

○ Ensayo inmunocromatográfico Acon: Muestra: Tejido hemático + Contaminante: Polvo negro

Al utilizar el inmunoensayo Acon, con la misma muestra hemática y contaminante que el anterior las muestras pasadas a un hisopo dieron en cualquier tiempo de extracción de las muestras en el buffer un resultado en mayor o menor medida óptimo, es decir, *Positivo*, al momento de ser leídas en la tira correspondiente.

De la misma tabla se observa que las muestras procesadas directamente desde el trozo de tela se obtuvieron resultados *Positivo* para los tiempos de extracción de las muestras en su buffer de 10 y 30 minutos. No reaccionando la tira inmunocromatográfica, interpretándose como *Negativo*, para las muestras procesadas durante 60 y 90 minutos en el buffer. Tabla # 6.

MUESTRAS PROCESADAS CON KIT ACON				
MUESTRA: Tejido hemático + CONTAMINANTE: Polvo negro				
Soporte	Tiempos de procesamiento en buffer			
	10`	30`	60`	90`
Trozo de tela	Positivo (1+)	Positivo (2+)	Negativo	Negativo
Hisopo	Positivo (3+)	Positivo (3+)	Positivo (3+)	Positivo (2+)

Tabla # 6: Kit Acon. Mtra.: T.H. + Cte.: Polvo Negro  
Fuente: *Elaboración Propia*

○ Ensayo inmunocromatográfico Hem – Check-1: Muestra: Tejido hemático + Contaminante: Povidona iodo

Siguiendo con el análisis en el caso de las muestras hemáticas contaminadas con un desinfectante antiséptico, como la povidona iodo con este kit inmunocromatográfico se obtuvo un resultado óptimo interpretado como *Positivo (3+)*, con mayor intensidad de línea en el cassette en las muestra extraída en el buffer durante 90 minutos. Los tiempos restantes si bien también dieron *Positivo*, los mismos fueron difusos, *Positivo (2+)*.

Las muestras procesadas directamente desde el trozo de tela no obtuvieron un resultado al ser leídas, interpretándose en todos los casos como *Negativo*. Obsérvese tabla # 7.

MUESTRAS PROCESADAS CON KIT HEM – CHECK-1				
MUESTRA: Tejido hemático + CONTAMINANTE: Povidona iodo				
Soporte	Tiempos de procesamiento en buffer			
	10`	30`	60`	90`
Trozo de tela	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Hisopo	Positivo (2+)	Positivo (2+)	Positivo (2+)	Positivo (3+)

Tabla # 7: Kit Hem Check-1. Mtra.: T.H. + Cte.: Povidona Iodo  
Fuente: *Elaboración Propia*

○ Ensayo inmunocromatográfico Acon: Muestra: Tejido hemático + Contaminante: Povidona Iodo

La muestra con el mismo contaminante analizada con este ensayo inmunocromatográfico se arribó a resultados *Positivos* para las muestras procesadas desde el hisopo, en todos los tiempos de extracción de las muestras, más allá de que la línea de lectura varíe de intensidad en la tira inmunocromatográfica, *Positivos (2+)* y *(3+)*.

Las muestras procesadas directamente desde el trozo de tela al ser leídas en la tira no reacciono, lo que se interpreta como *Negativo*, sin importar el tiempo de extracción de las muestras a ser leídas en el cassette. Referenciado en tabla # 8.

MUESTRAS PROCESADAS CON KIT ACON				
MUESTRA: Tejido hemático + CONTAMINANTE: Povidona iodo				
Soporte	Tiempos de procesamiento en buffer			
	10`	30`	60`	90`
Trozo de tela	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Hisopo	Positivo (2+)	Positivo (3+)	Positivo (2+)	Positivo (3+)

Tabla # 8: Kit Acon. Mtra.: T.H. + Cte.: Povidona Iodo  
Fuente: *Elaboración Propia*

○ Ensayo inmunocromatográfico Hem – Check-1: Muestra: Tejido hemático + Contaminante: Restos terrosos

De la lectura de la siguiente tabla para las muestras hemáticas contaminadas con tierra, los resultados arribados con el ensayo Hem – Check-1 fueron los siguientes: procesadas las muestras en forma indirecta desde hisopos, se obtuvieron al momento de ser leídas en el cassette, resultados *Positivos*, en los cuatro tiempos de extracción.

Las muestras procesadas directamente desde el trozo de tela, únicamente se obtuvo resultado en la muestra que se dejó en el buffer de extracción durante 60 minutos, siendo el mismo muy difuso, interpretado como (1+) *Positivo*, en los tres tiempos restantes al ser colocadas las muestras en el cassette, solo marco la línea control del kit, interpretándose como *Negativo*. Tabla # 9.

MUESTRAS PROCESADAS CON KIT HEM – CHECK-1				
MUESTRA: Tejido hemático + CONTAMINANTE: Restos terrosos				
Soporte	Tiempos de procesamiento en buffer			
	10`	30`	60`	90`
Trozo de tela	Negativo	Negativo	Positivo (1+)	Negativo
Hisopo	Positivo (2+)	Positivo (3+)	Positivo (3+)	Positivo (2+)

Tabla # 9: Kit Hem Check-1. Mtra.: T.H. + Cte.: Restos Terrosos  
Fuente: *Elaboración Propia*

○ Ensayo inmunocromatográfico Acon: Muestra: Tejido hemático + Contaminante: Restos terrosos

Con el empleo de este ensayo inmunocromatográfico el resultado obtenido fue *Positivo*, tanto para las muestras procesadas indirectamente (desde hisopo) como las procesadas directamente (desde el fragmento de tela) aunque en este caso el resultado obtenido fue difuso *Positivo (1+)* y (2+). La tabla # 10 a posterior ilustra lo expuesto.

MUESTRAS PROCESADAS CON KIT ACON				
MUESTRA: Tejido hemático + CONTAMINANTE: Restos terrosos				
Soporte	Tiempos de procesamiento en buffer			
	10`	30`	60`	90`
Trozo de tela	Positivo (1+)	Positivo (2+)	Positivo (2+)	Positivo (1+)
Hisopo	Positivo (3+)	Positivo (3+)	Positivo (3+)	Positivo (3+)

Tabla # 10: Kit Acon. Mtra.: T.H. + Cte.: Restos Terrosos  
Fuente: *Elaboración Propia*

○ Ensayo inmunocromatográfico Hem – Check-1: Muestra: Tejido hemático + Contaminante: Herrumbre

De las muestras hemáticas contaminadas en este caso con herrumbre con este kit inmunocromatográfico Hem – Check-1 se obtuvo un resultado óptimo, *Positivo (3+)*, con mayor intensidad de línea en el cassette en la muestra extraída en el buffer durante 60 minutos. Los tiempos restantes si bien también dieron el mismo resultado, los mismos fueron difusos *Positivo (2+)*.

Las muestras procesadas directamente desde el trozo de tela no obtuvieron un resultado al ser leídas, interpretándose en todos los casos como *Negativo*. Tabla # 11.

MUESTRAS PROCESADAS CON KIT HEM – CHECK-1				
MUESTRA: Tejido hemático + CONTAMINANTE: Herrumbre				
Soporte	Tiempos de procesamiento en buffer			
	10`	30`	60`	90`
Trozo de tela	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Hisopo	Positivo (2+)	Positivo (2+)	Positivo (3+)	Positivo (2+)

Tabla # 11: Kit Hem Check-1. Mtra.: T.H. + Cte.: Herrumbre  
Fuente: *Elaboración Propia*

○ Ensayo inmunocromatográfico Acon: Muestra: Tejido hemático + Contaminante: Herrumbre

Con este ensayo inmunocromatográfico Acon, la muestra hemática y contaminante: herrumbre, trabajadas indirectamente desde hisopo dieron en cualquier tiempo de extracción de las muestras en el buffer un resultado óptimo, es decir, *Positivo (3+)*, al momento de ser leídas en la tira correspondiente.

Por otro lado se observa que las muestras procesadas directamente desde el trozo de tela se obtuvieron resultados *Positivo* para los tiempos de extracción de las muestras en su buffer de 10 minutos (*3+*) y muy difusos en tiempos de 30 y 60 minutos (*1+*). No reaccionando la tira, interpretándose como *Negativo*, para la muestra procesada durante 90 minutos en el buffer. Ver Tabla # 12.

MUESTRAS PROCESADAS CON KIT ACON				
MUESTRA: Tejido hemático + CONTAMINANTE: Herrumbre				
Soporte	Tiempos de procesamiento en buffer			
	10`	30`	60`	90`
Trozo de tela	Positivo (3+)	Positivo (1+)	Positivo (1+)	Negativo
Hisopo	Positivo (3+)	Positivo (3+)	Positivo (3+)	Positivo (3+)

Tabla # 12: Kit Acon. Mtra.: T.H. + Cte.: Herrumbre  
Fuente: *Elaboración Propia*

**- Contraste entre los resultados obtenidos de las muestras procesadas con ambos ensayos inmunocromatográficos de acuerdo al contaminante empleado.**

Observaremos sustanciales diferencias, tanto entre los resultados alcanzados por uno y otro ensayo inmunocromatográfico como entre los distintos contaminantes y forma de procesamiento aplicado a las muestras de tejido hemático humano.

Dependiendo del contaminante de la muestra hemática y la forma de procesarla será el ensayo inmunocromatográfico apropiado a emplear para obtener un resultado óptimo y valedero.

- Muestra: Tejido hemático + Contaminante: Bluestar forensic free

Con ambos ensayos inmunocromatográficos se obtuvieron en resultados *Positivos*.

Para el inmunoensayo Acon, en las muestras de tejido hemático contaminadas con reactivo quimioluminiscente, Bluestar forensic free, se observaron diferencias mínimas, sin importar el tiempo de extracción de la muestra en el buffer, o el modo de procesamiento.

Sin embargo para el inmunoensayo Hem – Check-1 los resultados *Positivos* irrefutables fueron los obtenidos por medio de un modo indirecto de procesamiento de las muestras contaminadas. En cuanto a las procesadas directamente, se obtuvieron resultados *Positivos* en tres de los cuatro tiempos de extracción de las muestras y en el caso de la muestra procesada en un tiempo de extracción de 90 minutos el cambio de resultado fue abrupto, no marcando la línea del Test, dando resultado *Negativo*. Tabla # 13.

COMPARACION DE RESULTADOS OBTENIDOS CON AMBOS KITS			
<i>MUESTRA: Tejido hemático + CONTAMINANTE: Bluestar forensic free</i>			
Soporte	T.P.B.	HEM – CHECK-1	ACON
Trozo tela	10`	Positivo (2+)	Positivo (2+)
Hisopo		Positivo (3+)	Positivo (3+)
Trozo tela	30`	Positivo (1+)	Positivo (2+)
Hisopo		Positivo (2+)	Positivo (3+)
Trozo tela	60`	Positivo (2+)	Positivo (1+)
Hisopo		Positivo (3+)	Positivo (3+)
Trozo tela	90`	Negativo	Positivo (2+)
Hisopo		Positivo (3+)	Positivo (3+)

**Tabla # 13: Contraste ambos kits. Mtra.: T.H. + Cte.: Bluestar**  
Fuente: *Elaboración Propia*

- Muestra: Tejido hemático + Contaminante: Polvo negro

Ambos ensayos inmunocromatográficos marcaron resultados *Positivos*, en las muestras de tejido hemático contaminadas con polvo revelador de huellas dactilares, polvo negro, procesadas indirectamente (desde hisopo) sin importar el tiempo de extracción de la muestra en el buffer.

No obstante las muestras procesadas con ambos ensayos en forma directa (desde el trozo de tela) los resultados fueron poco precisos dando dependiendo del tiempo de extracción de la muestra en el buffer *Positivos* imprecisos o *Negativos*. Tabla # 14.

COMPARACION DE RESULTADOS OBTENIDOS CON AMBOS KITS			
MUESTRA: Tejido hemático + CONTAMINANTE: Polvo negro			
Soporte	T.P.B.	HEM – CHECK-1	ACON
Trozo tela	10`	Negativo	Positivo (1+)
Hisopo		Positivo (2+)	Positivo (3+)
Trozo tela	30`	Negativo	Positivo (2+)
Hisopo		Positivo (3+)	Positivo (3+)
Trozo tela	60`	Negativo	Negativo
Hisopo		Positivo (3+)	Positivo (3+)
Trozo tela	90`	Negativo	Negativo
Hisopo		Positivo (1+)	Positivo (2+)

Tabla # 14: Contraste ambos kits. Mtra.: T.H. + Cte.: Polvo Negro  
Fuente: *Elaboración Propia*

- Muestra: Tejido hemático + Contaminante: Povidona iodo

En el caso de las muestras de tejido hemático contaminadas con desinfectante antiséptico, povidona iodo, los dos ensayos inmunocromatográficos marcaron resultados *Positivos*, al procesar las muestras indirectamente sin interferir el tiempo de extracción en el buffer, aunque estos resultados positivos no tuvieran la misma intensidad al ser leídos.

Para las muestras procesadas con ambos inmunoensayos en forma directa los resultados fueron *Negativos*, en todos los casos. Tabla # 15.

COMPARACION DE RESULTADOS OBTENIDOS CON AMBOS KITS			
MUESTRA: Tejido hemático + CONTAMINANTE: Povidona iodo			
Soporte	T.P.B.	HEM – CHECK-1	ACON
Trozo tela	10`	Negativo	Negativo
Hisopo		Positivo (2+)	Positivo (2+)
Trozo tela	30`	Negativo	Negativo
Hisopo		Positivo (2+)	Positivo (3+)
Trozo tela	60`	Negativo	Negativo
Hisopo		Positivo (2+)	Positivo (2+)
Trozo tela	90`	Negativo	Negativo
Hisopo		Positivo (3+)	Positivo (3+)

Tabla # 15: Contraste ambos kits. Mtra.: T.H. + Cte.: Povidona Iodo  
Fuente: *Elaboración Propia*

- Muestra: Tejido hemático + Contaminante: Restos terrosos

Los resultados a los que se arribó con el ensayo inmunocromatográfico Acon fueron *Positivos*, para las muestras de tejido hemático contaminadas con restos terrosos, sin importar el modo de procesamiento de las mismas, observándose mínimas diferencias en los tiempos de extracción en el buffer.

Al analizar los resultados que evidencia el inmunoensayo Hem – Check-1 fueron *Positivos* los obtenidos por medio de un procesamiento indirecto de las muestras contaminadas. En cuanto a las procesadas directamente, se obtuvo resultado *Positivo* en la muestra extraída en el buffer durante un periodo de tiempo de 60 minutos. En las restantes muestras el resultado fue *Negativo*. Tabla # 16.

COMPARACION DE RESULTADOS OBTENIDOS CON AMBOS KITS			
MUESTRA: Tejido hemático + CONTAMINANTE: Restos terrosos			
Soporte	T.P.B.	HEM – CHECK-1	ACON
Trozo tela	10`	Negativo	Positivo (1+)
Hisopo		Positivo (2+)	Positivo (3+)
Trozo tela	30`	Negativo	Positivo (2+)
Hisopo		Positivo (3+)	Positivo (3+)
Trozo tela	60`	Positivo (1+)	Positivo (2+)
Hisopo		Positivo (3+)	Positivo (3+)
Trozo tela	90`	Negativo	Positivo (1+)
Hisopo		Positivo (2+)	Positivo (3+)

Tabla # 16: Contraste ambos kits. Mtra.: T.H. + Cte.: Restos Terrosos  
Fuente: *Elaboración Propia*

- Muestra: Tejido hemático + Contaminante: Herrumbre

Los dos inmunoensayos cromatográficos marcaron resultados *Positivos*, en las muestras de tejido hemático contaminadas con Herrumbre, procesadas indirectamente sin importar el tiempo de extracción de la muestra en el buffer, marcando con mayor intensidad las relevadas con el kit Acon.

No obstante las muestras procesadas en forma directa con el kit Hem – Check-1 los resultados a los que se arribó fueron en todos los casos *Negativo*. En cuanto a las muestras procesadas directamente con el kit Acon fueron poco precisos dando dependiendo del tiempo de extracción de la muestra en el buffer *Positivos* imprecisos o *Negativo*, como en el caso de la muestra con un tiempo de extracción de 90 minutos. Tabla # 17.

<b>COMPARACION DE RESULTADOS OBTENIDOS CON AMBOS KITS</b>			
<b><i>MUESTRA: Tejido hemático + CONTAMINANTE: Herrumbre</i></b>			
<b>Soporte</b>	<b>T.P.B.</b>	<b>HEM – CHECK-1</b>	<b>ACON</b>
Trozo tela	10`	<b>Negativo</b>	<b>Positivo (3+)</b>
Hisopo		<b>Positivo (2+)</b>	<b>Positivo (3+)</b>
Trozo tela	30`	<b>Negativo</b>	<b>Positivo (1+)</b>
Hisopo		<b>Positivo (2+)</b>	<b>Positivo (3+)</b>
Trozo tela	60`	<b>Negativo</b>	<b>Positivo (1+)</b>
Hisopo		<b>Positivo (3+)</b>	<b>Positivo (3+)</b>
Trozo tela	90`	<b>Negativo</b>	<b>Negativo</b>
Hisopo		<b>Positivo (2+)</b>	<b>Positivo (3+)</b>

**Tabla # 17: Contraste ambos kits. Mtra.: T.H. + Cte.: Herrumbre**  
Fuente: *Elaboración Propia*



# CAPÍTULO VIII

## CONCLUSIÓN

Finalizado el desarrollo en esta investigación es importante tener en cuenta lo siguiente para entender en que se basaron las conclusiones a las que se arribó: Las muestras procesadas en todos los casos, fueron realizadas con manchas de tejido hemático humano, a las que se contaminaron con sustancias halladas con frecuencia en el ámbito forense, para luego ser analizadas con los ensayos inmunocromatográficos específicos para especie humana seleccionados para el presente trabajo.

Es decir que partimos de la base de que en todos los casos debería darnos un resultado *Positivo*, interpretado como presencia de tejido hemático humano en la muestra, quedando por analizar si las sustancias con las que se contaminaron las muestras alteraron los resultados obtenidos.

- ✓ Luego de la aplicación del kit “Hem – Check-1 – cassette” de la firma comercial Veda Lab, podemos concluir que esta técnica inmunocromatográfica presentó un inapropiado desempeño ante las muestras que fueron procesadas directamente, es decir, las que se encontraban en el soporte de tela de mezclilla, (jeans).

En el caso de las muestras trabajadas de manera indirecta, es decir, aquellas que fueron pasadas del soporte de tela a un hisopo embebido en solución fisiológica, con este inmunoensayo se obtuvo un óptimo desempeño.

- ✓ Después de la aplicación del kit “Acon – tira” de la firma comercial Acon Biotech, podemos concluir que este otro ensayo inmunocromatográfico presentó un mejor desempeño que el anterior, tanto en las muestras que fueron procesadas directamente, desde el soporte de tela de mezclilla, como las muestras que fueron procesadas indirectamente, es decir, desde hisopo.
- ✓ Ambas pruebas demostraron ser insensibles a la exposición al reactivo químico luminiscente Bluestar Forensic Free y expuestas a Restos Terrosos en los soportes evaluados.

- ✓ El polvo negro revelador papiloscópico, y los restos de óxidos (herrumbre), no modificaron los resultados positivos obtenidos con ambas pruebas al ser analizadas indirectamente.

Presentándose si interferencias, en algunos de los tiempos de extracción de las muestras en los buffers en las que fueron procesadas directamente del soporte de tela.

- ✓ El desinfectante antiséptico povidona yodo tuvo con ambas pruebas inmunocromatográficas resultados disimiles, variando con el modo de procesamiento de los soportes, obteniéndose resultados óptimos al procesarlas indirectamente, advirtiéndose interferencias en las muestras analizadas directamente del soporte de tela.
- ✓ En cuanto a los tiempos de extracción de las muestras en los buffers, en las condiciones que se trabajó, no representaron un dato relevante a tener en cuenta ya que en general se obtuvieron resultados óptimos en todos ellos.
- ✓ Al haberse empleado en todos los casos, más allá de los diferentes contaminantes tejido hemático humano y al haber sido procesadas por medio de dos pruebas inmunocromatográficas específicas para detectar la presencia de tejido hemático humano en las muestras, los resultados obtenidos opuestos a los positivos, son considerados como *falsos negativos*, pudiéndose ser causados por un exceso de tejido hemático.
- ✓ De las dos firmas comerciales empleadas en esta investigación la más adecuada a aplicar es el kit “Acon – tira” de la firma comercial Acon Biotech, para las condiciones de trabajo evaluadas; ya que el contaminante empleado y modo de procesamiento, influyeron en menor medida en los resultados obtenidos.
- ✓ Se concluye que, sin importar el ensayo inmunocromatográfico empleado, la forma de procesamiento de las muestras debe ser indirecta, ya que las tablas indican que siempre se obtienen los resultados correctos, debido a que las variables, tales como los contaminantes o el tiempo de procesamiento no influyen en los resultados.

## RECOMENDACIONES

Como desenlace de lo expuesto en el presente estudio surgen otras posibilidades dentro de esta misma línea de investigación, por ello podrían afrontarse proyectos que tengan en cuenta las siguientes variables o condiciones:

- Utilizar una mayor unidad muestral.
- Evaluar la detección de la mínima cantidad de analito por las técnicas empleadas.
- Aplicar otros kits para la detección de tejido hemático humano.
- Estimar el empleo de otros soportes (tela de algodón, lienzo, impermeable).
- Emplear otros contaminantes de las muestras (hipoclorito diluido, detergentes, cianocrilato, tinta, extractos vegetales, etc.).
- Someter las muestras a diferentes condiciones climáticas (lluvia, viento, sol, humedad) y cambios de temperatura (frio o calor extremos).
- Estudiar manchas de tejido hemático con diferentes tiempos de antigüedad.
- Analizar muestras de sangre de personas que presenten algún tipo de anomalía en la hemoglobina.



# APÉNDICE

## ANEXO I

### I. Determinación de especie humana kit HEM - CHECK-1:

(Fragmento de tela de mezclilla colocado directamente en buffer proveniente en el kit).

#### ✚ Procesamiento de las muestras contaminadas:

Ilustración muestras contaminadas con Bluestar Forensic Free.

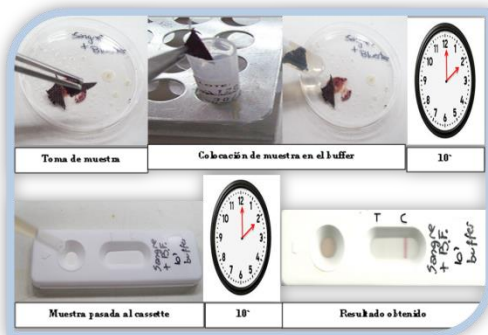


Ilustración # 1: Mtra. (tela) procesada 10' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*



Ilustración # 2: Mtra. (tela) procesada 30' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

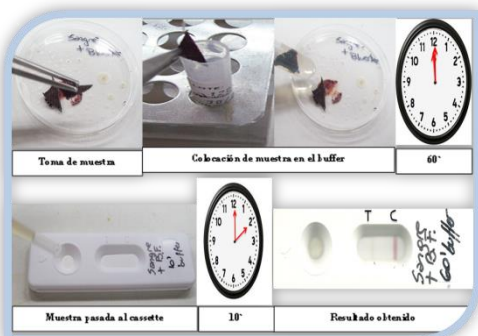


Ilustración # 3: Mtra. (tela) procesada 60' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

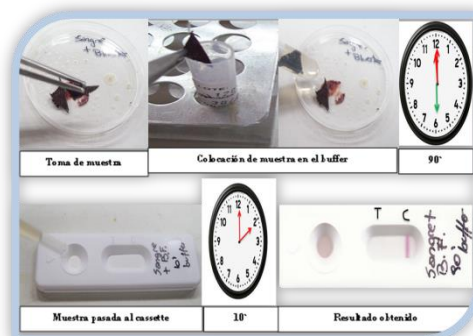


Ilustración # 4: Mtra. (tela) procesada 90' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

Ilustración muestras contaminadas con Polvo Negro.



Ilustración # 5: Mtra. (tela) procesada 10' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*



Ilustración # 6: Mtra. (tela) procesada 30' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

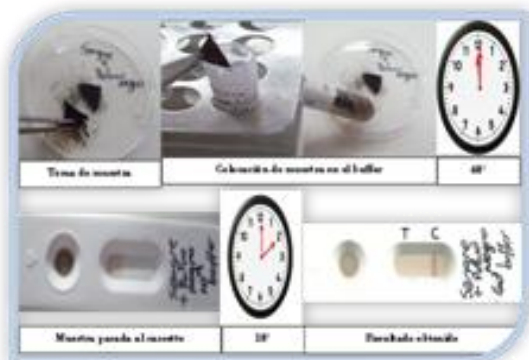


Ilustración # 7: Mtra. (tela) procesada 60' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

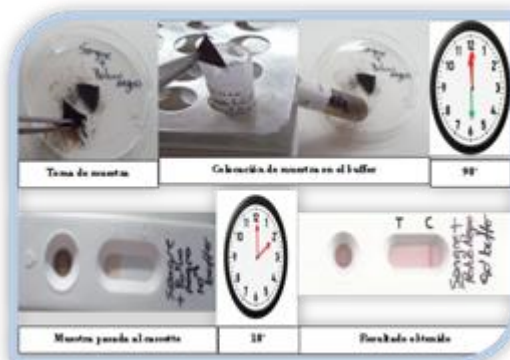


Ilustración # 8: Mtra. (tela) procesada 90' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

Ilustración muestras contaminadas con Povidona Iodo.

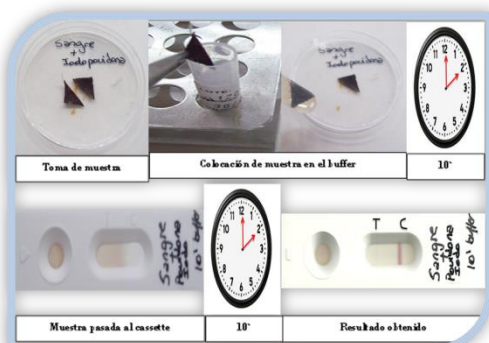


Ilustración # 9: Mtra. (tela) procesada 10' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

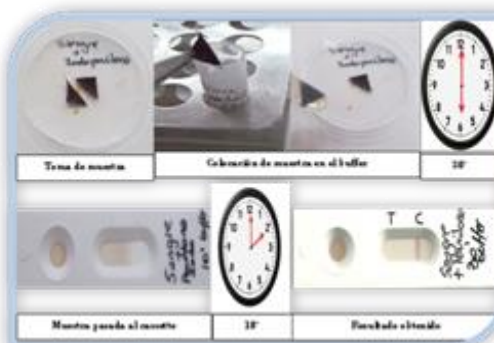


Ilustración # 10: Mtra. (tela) procesada 30' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

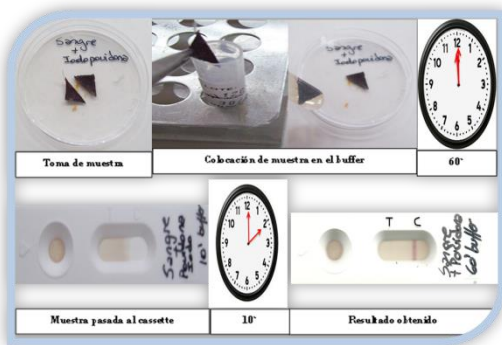


Ilustración # 11: Mtra. (tela) procesada 60' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

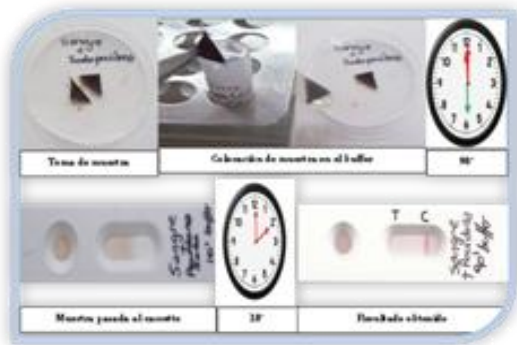


Ilustración # 12: Mtra. (tela) procesada 90' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

Ilustración muestras contaminadas con Restos Terrosos.

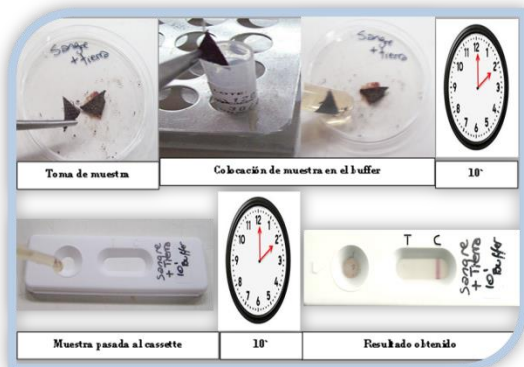


Ilustración # 13: Mtra. (tela) procesada 10' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

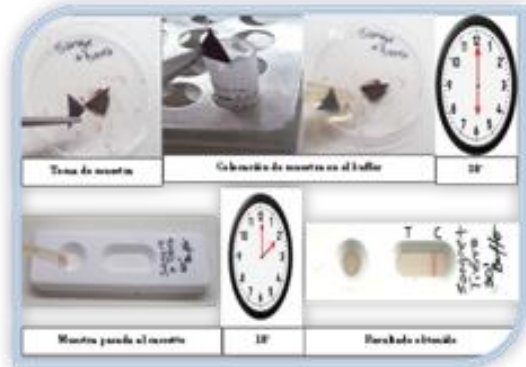


Ilustración # 14: Mtra. (tela) procesada 30' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

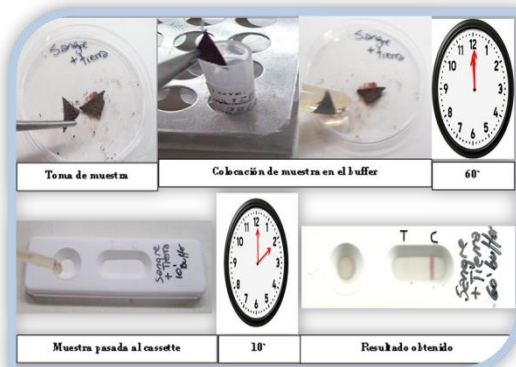


Ilustración # 15: Mtra. (tela) procesada 60' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

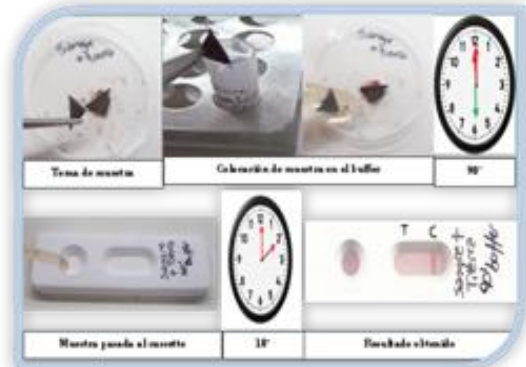


Ilustración # 16: Mtra. (tela) procesada 90' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

Ilustración muestras contaminadas con Herrumbre.

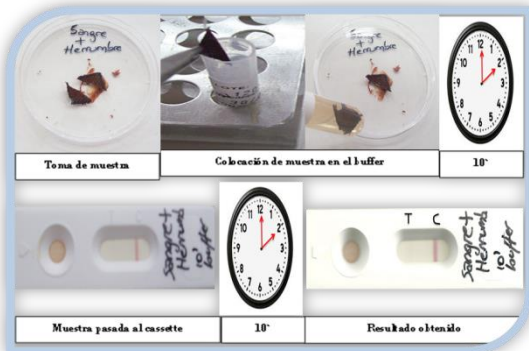


Ilustración # 17: Mtra. (tela) procesada 10' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

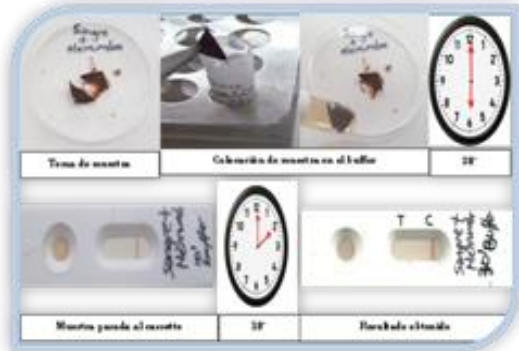


Ilustración # 18: Mtra. (tela) procesada 30' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

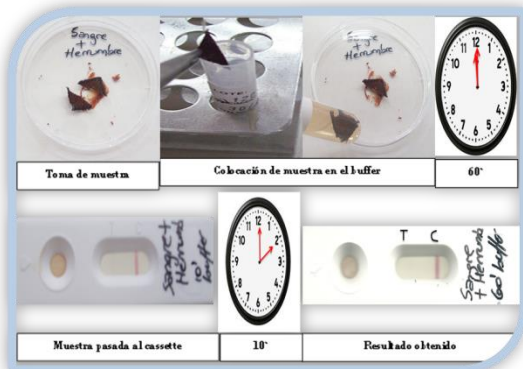


Ilustración # 19: Mtra. (tela) procesada 60' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*



Ilustración # 20: Mtra. (tela) procesada 90' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

II- Determinación de especie humana kit ACON:

(Fragmento de tela de mezclilla colocado directamente en buffer proveniente en el kit).

✚ **Procesamiento de las muestras contaminadas**

Ilustración muestras contaminadas con Bluestar Forensic Free.

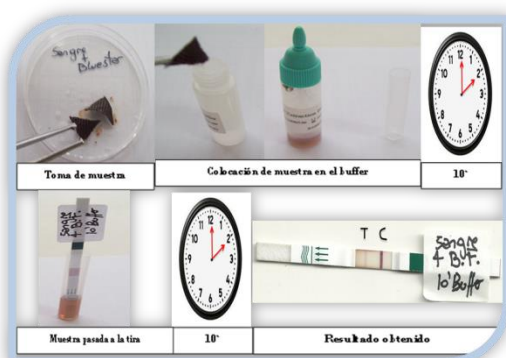


Ilustración # 21: Mtra. (tela) procesada 10' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*



Ilustración # 22: Mtra. (tela) procesada 30' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*



Ilustración # 23: Mtra. (tela) procesada 60` en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*



Ilustración # 24: Mtra. (tela) procesada 90` en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

Ilustración muestras contaminadas con Polvo Negro.



Ilustración # 25: Mtra. (tela) procesada 10` en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

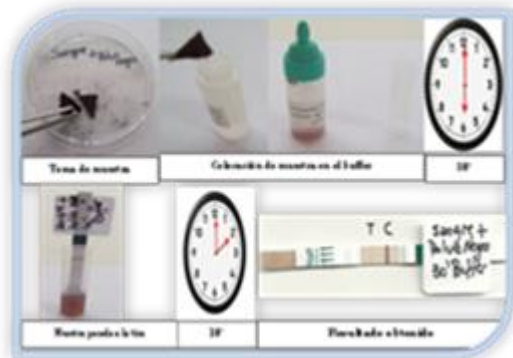


Ilustración # 26: Mtra. (tela) procesada 30` en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

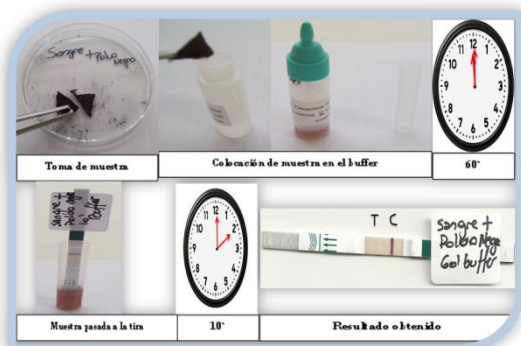


Ilustración # 27: Mtra. (tela) procesada 60` en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*



Ilustración # 28: Mtra. (tela) procesada 90` en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

Ilustración muestras contaminadas con Povidona Iodo.



Ilustración # 29: Mtra. (tela) procesada 10` en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

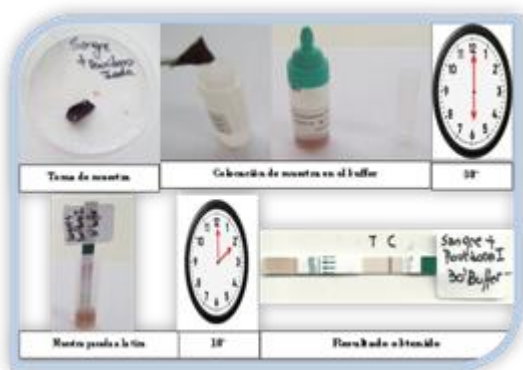


Ilustración # 30: Mtra. (tela) procesada 30` en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

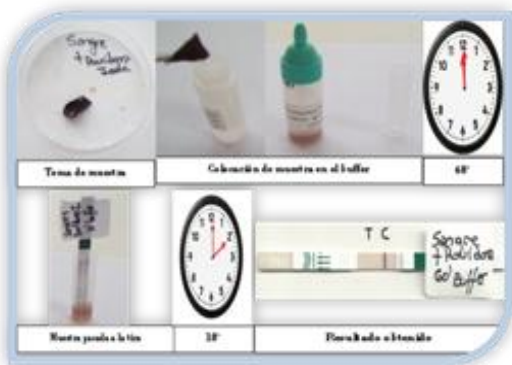


Ilustración # 31: Mtra. (tela) procesada 60` en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

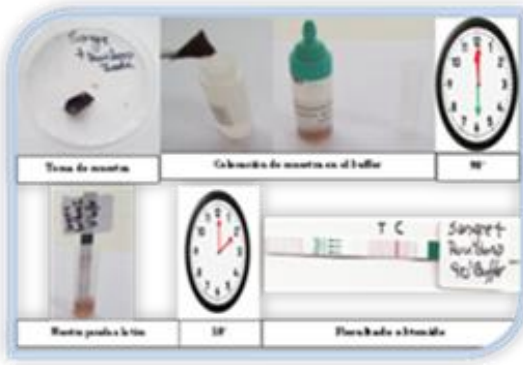


Ilustración # 32: Mtra. (tela) procesada 90` en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

Ilustración muestras contaminadas con Restos Terrosos.



Ilustración # 33: Mtra. (tela) procesada 10` en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*



Ilustración # 34: Mtra. (tela) procesada 30` en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*



Ilustración # 35: Mtra. (tela) procesada 60' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*



Ilustración # 36: Mtra. (tela) procesada 90' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

Ilustración muestras contaminadas con Herrumbre.



Ilustración # 37: Mtra. (tela) procesada 10' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*



Ilustración # 38: Mtra. (tela) procesada 30' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*



Ilustración # 39: Mtra. (tela) procesada 60' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*



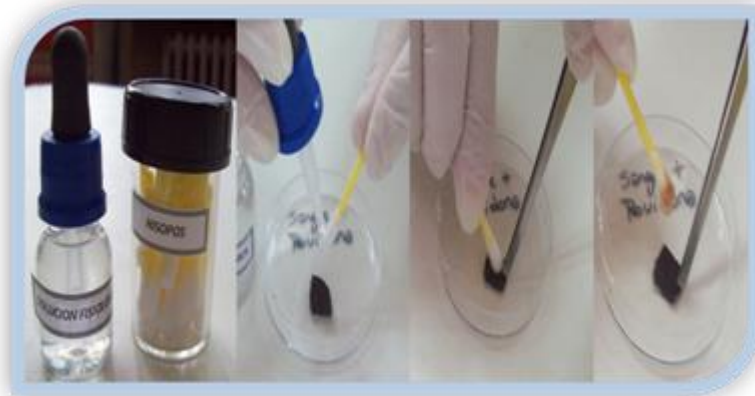
Ilustración # 40: Mtra. (tela) procesada 90' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

III. Determinación de especie humana kit Hem – Check-1:

(Muestra pasada del fragmento de tela de mezclilla a hisopo embebido en solución fisiológica y colocada posteriormente en buffer proveniente en el kit)

**✚Procesamiento de las muestras contaminadas**

Pasaje de manchas contaminadas a hisopos embebidos en solución fisiológica.



Pasaje de la mancha contaminada a hisopo embebido en solución fisiológica.  
Fuente: *Elaboración Propia*

Ilustración muestras contaminadas con Bluestar Forensic Free.



Ilustración # 41: Mtra. (hisopo) procesada 10' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

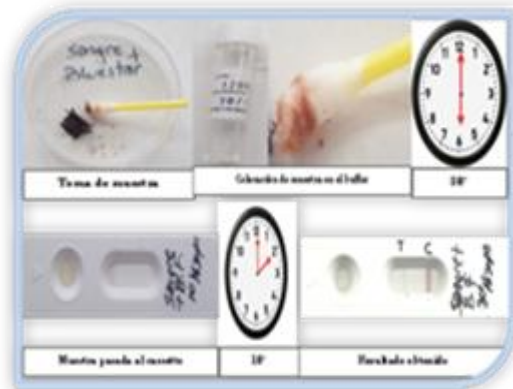


Ilustración # 42: Mtra. (hisopo) procesada 30' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

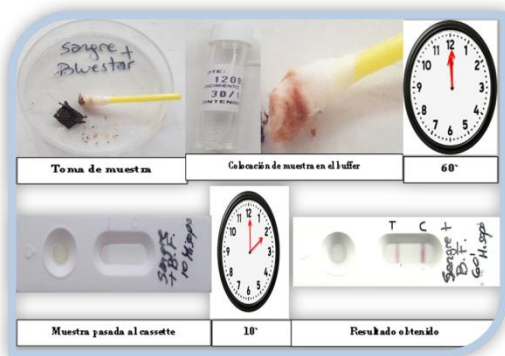


Ilustración # 43: Mtra. (hisopo) procesada 60' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*



Ilustración # 44: Mtra. (hisopo) procesada 90' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

Ilustración muestras contaminadas con Polvo Negro.

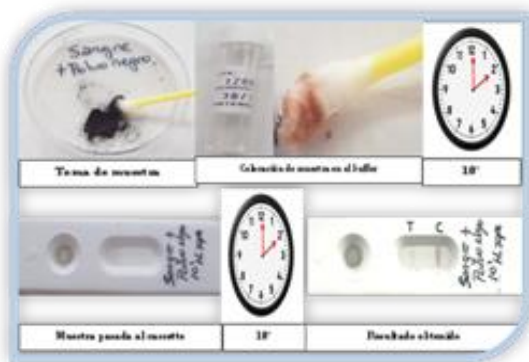


Ilustración # 45: Mtra. (hisopo) procesada 10' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*



Ilustración # 46: Mtra. (hisopo) procesada 30' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*



Ilustración # 47: Mtra. (hisopo) procesada 60' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*



Ilustración # 48: Mtra. (hisopo) procesada 90' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

Ilustración muestras contaminadas con Povidona Iodo.



Ilustración # 49: Mtra. (hisopo) procesada 10' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*



Ilustración # 50: Mtra. (hisopo) procesada 30' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*



Ilustración # 51: Mtra. (hisopo) procesada 60' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*



Ilustración # 52: Mtra. (hisopo) procesada 90' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

Ilustración muestras contaminadas con Restos Terrosos.

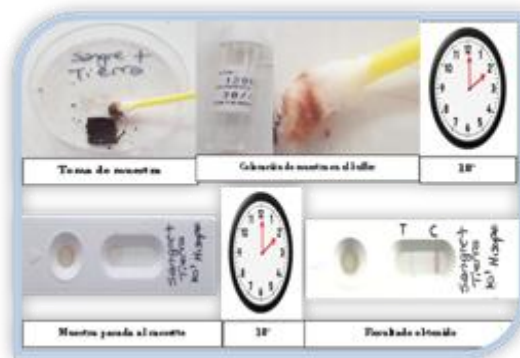


Ilustración # 53: Mtra. (hisopo) procesada 10' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

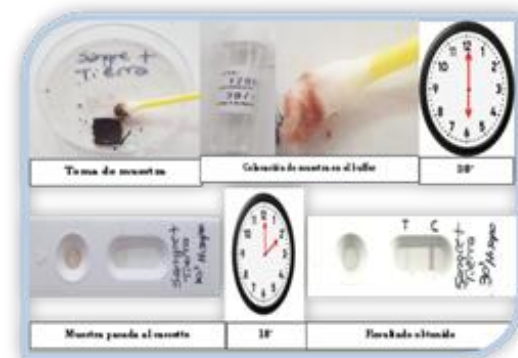


Ilustración # 54: Mtra. (hisopo) procesada 30' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

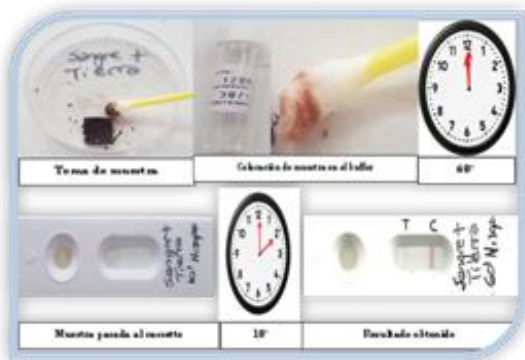


Ilustración # 55: Mtra. (hisopo) procesada 60' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

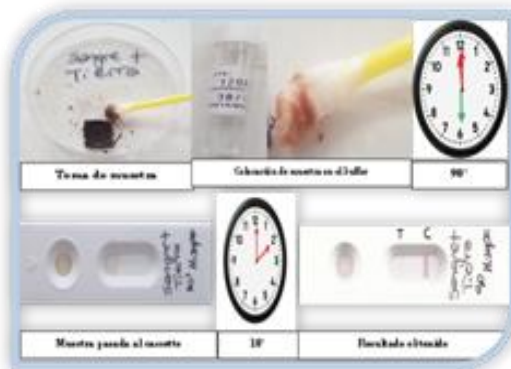


Ilustración # 56: Mtra. (hisopo) procesada 90' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

Ilustración muestras contaminadas con Herrumbre.

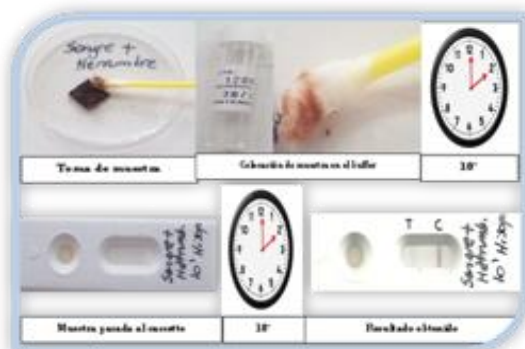


Ilustración # 57: Mtra. (hisopo) procesada 10' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

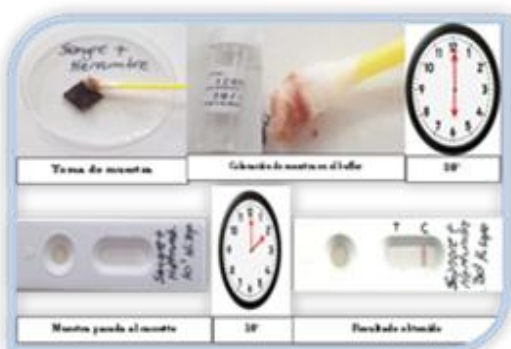


Ilustración # 58: Mtra. (hisopo) procesada 30' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

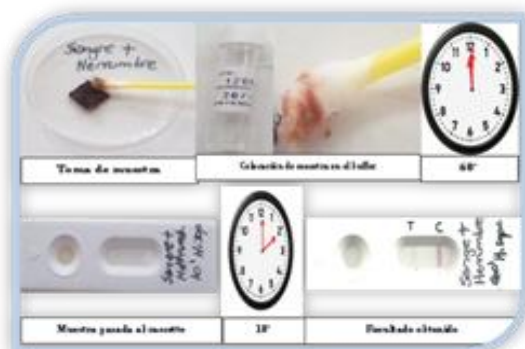


Ilustración # 59: Mtra. (hisopo) procesada 60' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

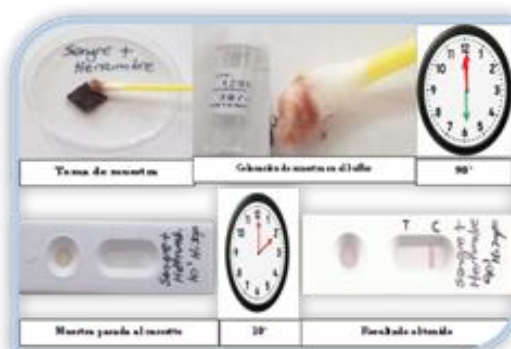


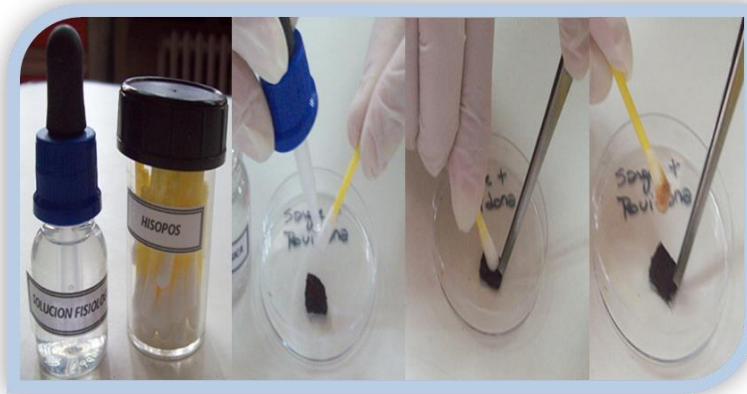
Ilustración # 60: Mtra. (hisopo) procesada 90' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

IV. Determinación de especie humana kit Acon:

(Muestra pasada del fragmento de tela de mezclilla a hisopo embebido en solución fisiológica y colocada posteriormente en buffer proveniente en el kit)

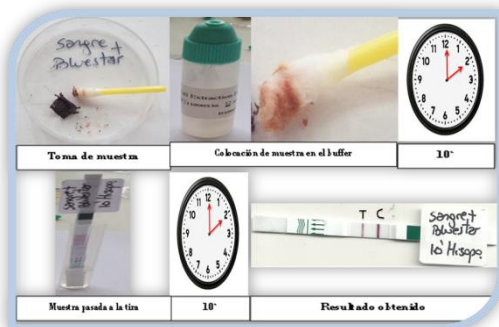
**✚ Procesamiento de las muestras contaminadas**

Pasaje de manchas contaminadas a hisopos embebidos en solución fisiológica.

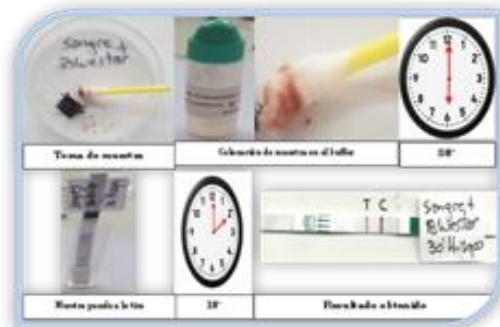


**Pasaje de la mancha contaminada a hisopo embebido en solución fisiológica.**  
*Fuente: Elaboración Propia*

Ilustración muestras contaminadas con Bluestar Forensic Free



**Ilustración # 61: Mtra. (hisopo) procesada 10' en buffer.**  
*Fuente: Elaboración Propia*



**Ilustración # 62: Mtra. (hisopo) procesada 30' en buffer.**  
*Fuente: Elaboración Propia*

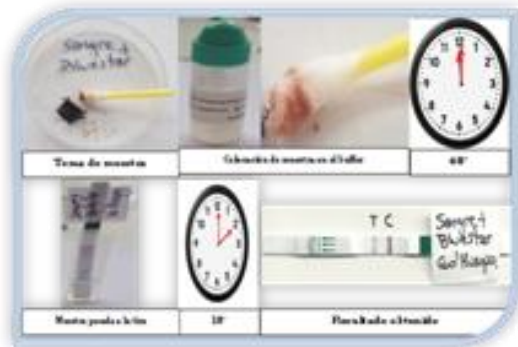


Ilustración # 63: Mtra. (hisopo) procesada 60' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

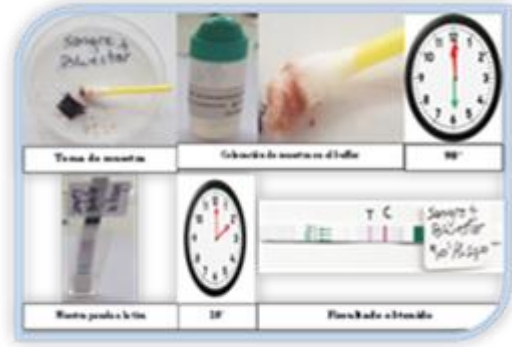


Ilustración # 64: Mtra. (hisopo) procesada 90' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

Ilustración muestras contaminadas con Polvo Negro.

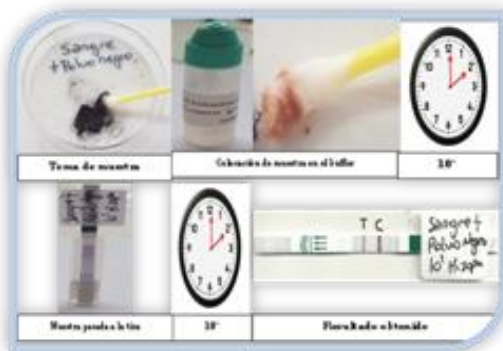


Ilustración # 65: Mtra. (hisopo) procesada 10' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

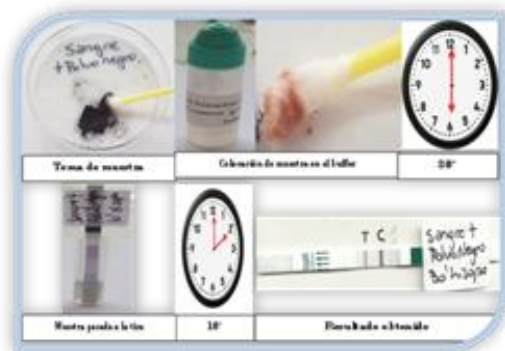


Ilustración # 66: Mtra. (hisopo) procesada 30' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

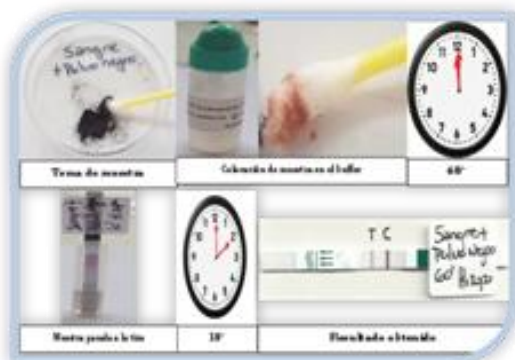


Ilustración # 67: Mtra. (hisopo) procesada 60' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

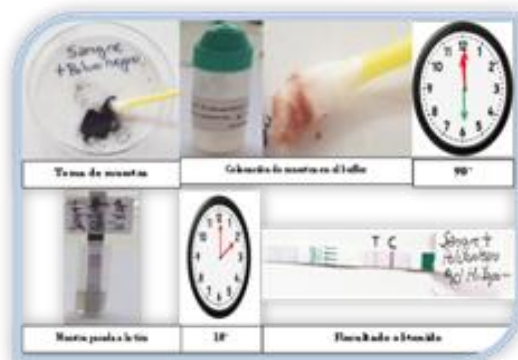


Ilustración # 68: Mtra. (hisopo) procesada 90' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

Ilustración muestras contaminadas con Povidona Iodo.

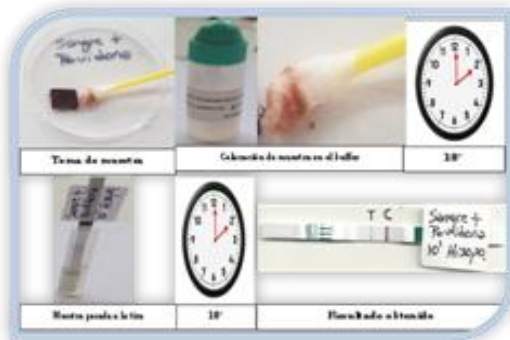


Ilustración # 69: Mtra. (hisopo) procesada 10` en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

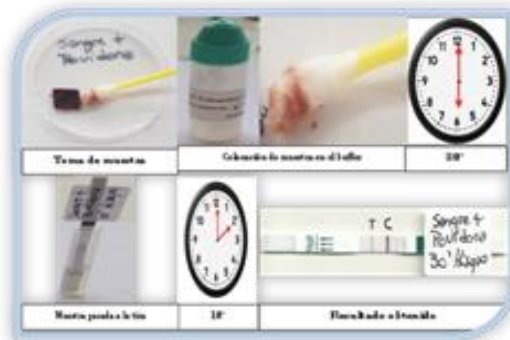


Ilustración # 70: Mtra. (hisopo) procesada 30` en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

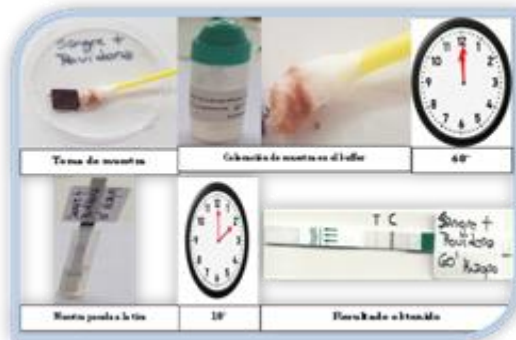


Ilustración # 71: Mtra. (hisopo) procesada 60` en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

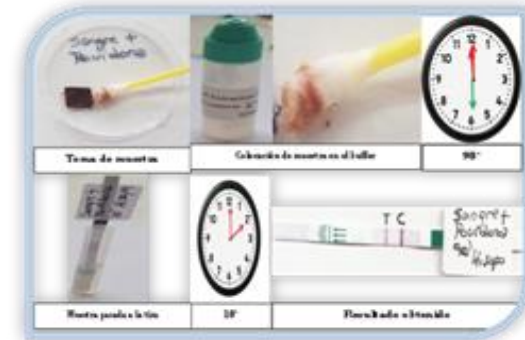


Ilustración # 72: Mtra. (hisopo) procesada 90` en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

Ilustración muestras contaminadas con Restos Terrosos.

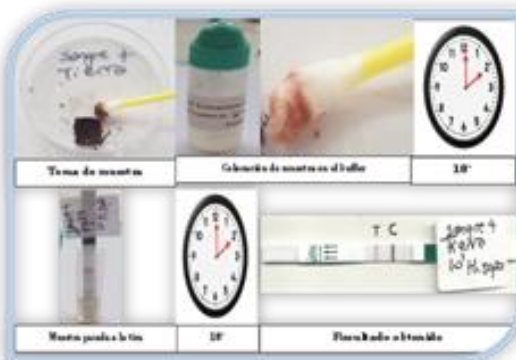


Ilustración # 73: Mtra. (hisopo) procesada 10` en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

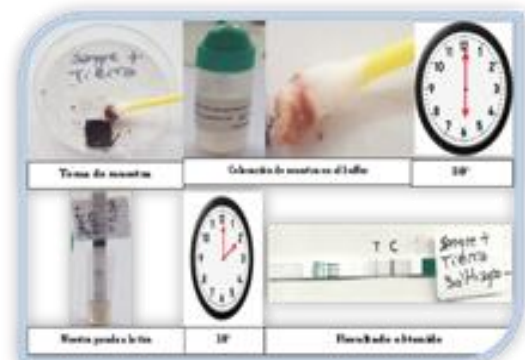


Ilustración # 74: Mtra. (hisopo) procesada 30` en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

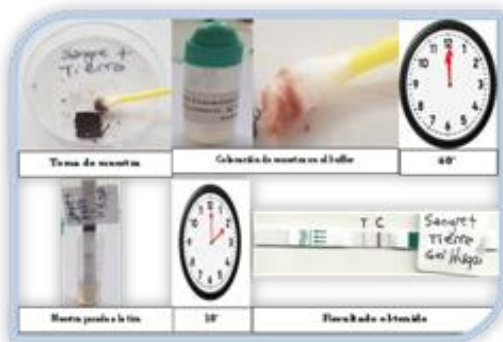


Ilustración # 75: Mtra. (hisopo) procesada 60' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

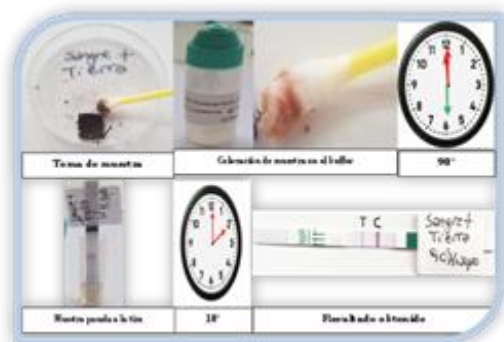


Ilustración # 76: Mtra. (hisopo) procesada 90' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

Ilustración muestras contaminadas con Herrumbre.

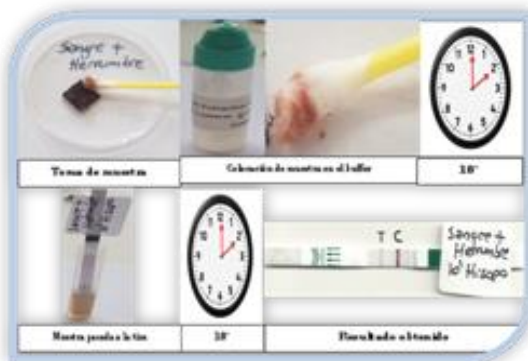


Ilustración # 77: Mtra. (hisopo) procesada 10' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

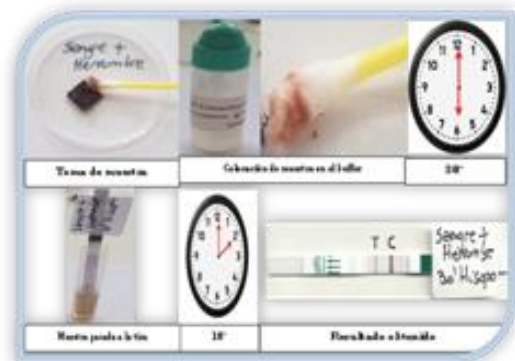


Ilustración # 78: Mtra. (hisopo) procesada 30' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

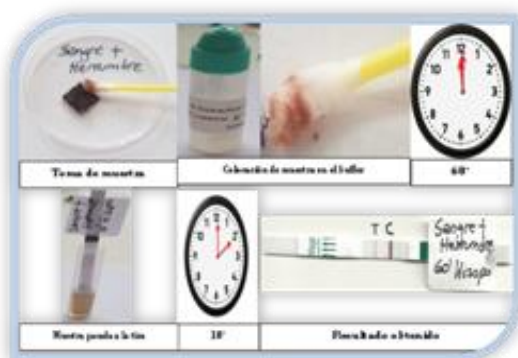


Ilustración # 79: Mtra. (hisopo) procesada 60' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

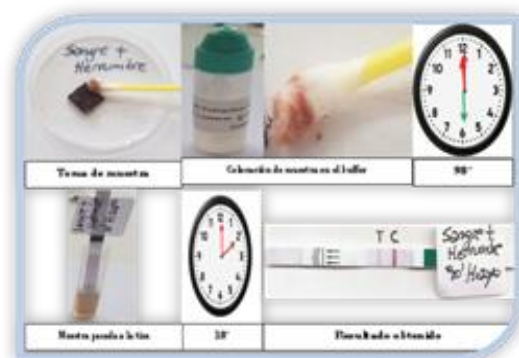
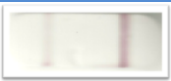
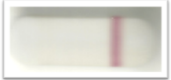












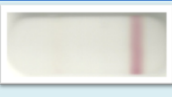


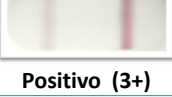
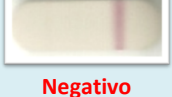
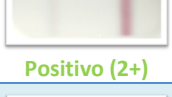
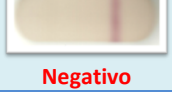
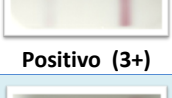
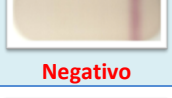
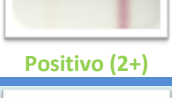
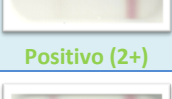
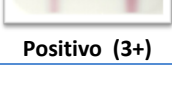
Ilustración # 80: Mtra. (hisopo) procesada 90' en buffer.  
Fuente: *Elaboración Propia*

## ANEXO II






- **Resultados obtenidos con ambos ensayos inmunocromatográficos**

Tabla comparativa tiempos y modos de procesamiento de las muestras procesadas con kit Hem – check-1:

MUESTRAS PROCESADAS CON KIT HEM CHECK-1			
Control	Soporte	Muestra + Contaminante	Resultado
Positivo	---	Sangre humana	
Negativo	---	Buffer	
Tiempo de extracción de la muestra en el buffer			
10`	Trozo tela	Sangre + Bluestar	 Negativo
	Hisopo	Sangre + Bluestar	 Positivo (2+)
	Trozo tela	Sangre + Polvo Negro	 Negativo
	Hisopo	Sangre + Polvo Negro	 Positivo (2+)
	Trozo tela	Sangre + Povidona Iodo	 Negativo
	Hisopo	Sangre + Povidona Iodo	 Positivo (2+)
	Trozo tela	Sangre + Restos Terrosos	 Negativo
	Hisopo	Sangre + Restos Terrosos	 Positivo (2+)







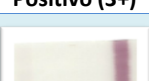
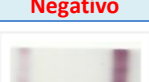
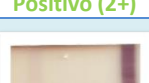
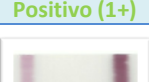
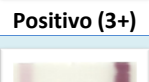
	Trozo tela	Sangre + Herrumbre	 <b>Negativo</b>
	Hisopo	Sangre + Herrumbre	 <b>Positivo (2+)</b>
<b>30`</b>	Trozo tela	Sangre + Bluestar	 <b>Positivo (1+)</b>
	Hisopo	Sangre + Bluestar	 <b>Positivo (2+)</b>
	Trozo tela	Sangre + Polvo Negro	 <b>Negativo</b>
	Hisopo	Sangre + Polvo Negro	 <b>Positivo (3+)</b>
	Trozo tela	Sangre + Povidona Iodo	 <b>Negativo</b>
	Hisopo	Sangre + Povidona Iodo	 <b>Positivo (2+)</b>
	Trozo tela	Sangre + Restos Terrosos	 <b>Negativo</b>
	Hisopo	Sangre + Restos Terrosos	 <b>Positivo (3+)</b>
	Trozo tela	Sangre + Herrumbre	 <b>Negativo</b>
	Hisopo	Sangre + Herrumbre	 <b>Positivo (2+)</b>
<b>60`</b>	Trozo tela	Sangre + Bluestar	 <b>Positivo (2+)</b>
	Hisopo	Sangre + Bluestar	 <b>Positivo (3+)</b>

	Trozo tela	Sangre + Polvo Negro	 <b>Negativo</b>
	Hisopo	Sangre + Polvo Negro	 <b>Positivo (3+)</b>
	Trozo tela	Sangre + Povidona Iodo	 <b>Negativo</b>
	Hisopo	Sangre + Povidona Iodo	 <b>Positivo (2+)</b>
	Trozo tela	Sangre + Restos Terrosos	 <b>Positivo (1+)</b>
	Hisopo	Sangre + Restos Terrosos	 <b>Positivo (3+)</b>
	Trozo tela	Sangre + Herrumbre	 <b>Negativo</b>
	Hisopo	Sangre + Herrumbre	 <b>Positivo (3+)</b>
<b>90`</b>	Trozo tela	Sangre + Bluestar	 <b>Negativo</b>
	Hisopo	Sangre + Bluestar	 <b>Positivo (3+)</b>
	Trozo tela	Sangre + Polvo Negro	 <b>Negativo</b>
	Hisopo	Sangre + Polvo Negro	 <b>Positivo (1+)</b>
	Trozo tela	Sangre + Povidona Iodo	 <b>Negativo</b>










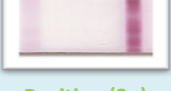



	Hisopo	Sangre + Povidona Iodo	 <b>Positivo (3+)</b>
	Trozo tela	Sangre + Restos Terrosos	 <b>Negativo</b>
	Hisopo	Sangre + Restos Terrosos	 <b>Positivo (2+)</b>
	Trozo tela	Sangre + Herrumbre	 <b>Negativo</b>
	Hisopo	Sangre + Herrumbre	 <b>Positivo (2+)</b>

**Tabla # 1: Muestras procesadas con kit Hem Check-1.**  
Fuente: *Elaboración Propia*

Tabla comparativa tiempos y modos de procesamiento de las muestras procesadas con kit Acon:

<b>MUESTRAS PROCESADAS CON KIT ACON</b>			
<b>Control</b>	<b>Soporte</b>	<b>Muestra + Contaminante</b>	<b>Resultado</b>
<b>Positivo</b>	---	Sangre humana	
<b>Negativo</b>	---	Buffer	
<b>Tiempo de extracción de la muestra en el buffer</b>			
<b>10`</b>	Trozo tela	Sangre + Bluestar	 <b>Positivo (2+)</b>
	Hisopo	Sangre + Bluestar	 <b>Positivo (3+)</b>
	Trozo tela	Sangre + Polvo Negro	 <b>Positivo (1+)</b>
	Hisopo	Sangre + Polvo Negro	 <b>Positivo (3+)</b>
	Trozo tela	Sangre + Povidona Iodo	 <b>Negativo</b>
	Hisopo	Sangre + Povidona Iodo	 <b>Positivo (2+)</b>
	Trozo tela	Sangre + Restos Terrosos	 <b>Positivo (1+)</b>
	Hisopo	Sangre + Restos Terrosos	 <b>Positivo (3+)</b>
	Trozo tela	Sangre + Herrumbre	

			<b>Positivo (3+)</b>
	Hisopo	Sangre + Herrumbre	 <b>Positivo (3+)</b>
30`	Trozo tela	Sangre + Bluestar	 <b>Positivo (2+)</b>
	Hisopo	Sangre + Bluestar	 <b>Positivo (3+)</b>
	Trozo tela	Sangre + Polvo Negro	 <b>Positivo (2+)</b>
	Hisopo	Sangre + Polvo Negro	 <b>Positivo (3+)</b>
	Trozo tela	Sangre + Povidona Iodo	 <b>Negativo</b>
	Hisopo	Sangre + Povidona Iodo	 <b>Positivo (3+)</b>
	Trozo tela	Sangre + Restos Terrosos	 <b>Positivo (2+)</b>
	Hisopo	Sangre + Restos Terrosos	 <b>Positivo (3+)</b>
	Trozo tela	Sangre + Herrumbre	 <b>Positivo (1+)</b>
	Hisopo	Sangre + Herrumbre	 <b>Positivo (3+)</b>
60`	Trozo tela	Sangre + Bluestar	 <b>Positivo (1+)</b>

	Hisopo	Sangre + Bluestar	 Positivo (3+)
	Trozo tela	Sangre + Polvo Negro	 Negativo
	Hisopo	Sangre + Polvo Negro	 Positivo (3+)
	Trozo tela	Sangre + Povidona Iodo	 Negativo
	Hisopo	Sangre + Povidona Iodo	 Positivo (2+)
	Trozo tela	Sangre + Restos Terrosos	 Positivo (2+)
	Hisopo	Sangre + Restos Terrosos	 Positivo (3+)
	Trozo tela	Sangre + Herrumbre	 Positivo (1+)
	Hisopo	Sangre + Herrumbre	 Positivo (3+)
90`	Trozo tela	Sangre + Bluestar	 Positivo (2+)
	Hisopo	Sangre + Bluestar	 Positivo (3+)
	Trozo tela	Sangre + Polvo Negro	 Negativo
	Hisopo	Sangre + Polvo Negro	 Positivo (2+)

	Trozo tela	Sangre + Povidona Iodo	 <b>Negativo</b>
	Hisopo	Sangre + Povidona Iodo	 <b>Positivo (3+)</b>
	Trozo tela	Sangre + Restos Terrosos	 <b>Positivo (1+)</b>
	Hisopo	Sangre + Restos Terrosos	 <b>Positivo (3+)</b>
	Trozo tela	Sangre + Herrumbre	 <b>Negativo</b>
	Hisopo	Sangre + Herrumbre	 <b>Positivo (3+)</b>

**Tabla # 2: Muestras procesadas con kit Acon.**  
*Fuente: Elaboración Propia*

### ANEXO III

- Interpretación de resultados obtenidos por el modo de procesamiento y tiempos de extracción en buffer para cada muestra y contaminante









MUESTRAS PROCESADAS CON KIT HEM – CHECK-1				
<i>MUESTRA: Tejido hemático + CONTAMINANTE: Bluestar forensic free</i>				
Soporte	Tiempos de procesamiento en buffer			
	10`	30`	60`	90`
Trozo de tela	 Negativo	 Positivo (1+)	 Positivo (2+)	 Negativo
Hisopo	 Positivo (2+)	 Positivo (2+)	 Positivo (3+)	 Positivo (3+)

Tabla # 3: Kit Hem Check-1. Mtra.: T.H. + Cte.: Bluestar  
Fuente: *Elaboración Propia*

MUESTRAS PROCESADAS CON KIT ACON				
<i>MUESTRA: Tejido hemático + CONTAMINANTE: Bluestar forensic free</i>				
Soporte	Tiempos de procesamiento en buffer			
	10`	30`	60`	90`
Trozo de tela	 Positivo (2+)	 Positivo (2+)	 Positivo (1+)	 Positivo (2+)
Hisopo	 Positivo (3+)	 Positivo (3+)	 Positivo (3+)	 Positivo (3+)

Tabla # 4: Kit Acon. Mtra.: T.H. + Cte.: Bluestar  
Fuente: *Elaboración Propia*

MUESTRAS PROCESADAS CON KIT HEM – CHECK-1				
<i>MUESTRA: Tejido hemático + CONTAMINANTE: Polvo negro</i>				









Soporte	Tiempos de procesamiento en buffer			
	10`	30`	60`	90`
Trozo de tela	 Negativo	 Negativo	 Negativo	 Negativo
Hisopo	 Positivo (2+)	 Positivo (3+)	 Positivo (3+)	 Positivo (1+)

Tabla # 5: Kit Hem Check-1. Mtra.: T.H. + Cte.: Polvo Negro  
Fuente: *Elaboración Propia*

MUESTRAS PROCESADAS CON KIT ACON				
MUESTRA: Tejido hemático + CONTAMINANTE: Polvo negro				
Soporte	Tiempos de procesamiento en buffer			
	10`	30`	60`	90`
Trozo de tela	 Positivo (1+)	 Positivo (2+)	 Negativo	 Negativo
Hisopo	 Positivo (3+)	 Positivo (3+)	 Positivo (3+)	 Positivo (2+)

Tabla # 6: Kit Acon. Mtra.: T.H. + Cte.: Polvo Negro  
Fuente: *Elaboración Propia*



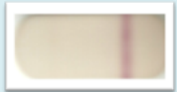





MUESTRAS PROCESADAS CON KIT HEM – CHECK-1				
MUESTRA: Tejido hemático + CONTAMINANTE: Povidona iodo				
Soporte	Tiempos de procesamiento en buffer			
	10`	30`	60`	90`
Trozo de tela	 Negativo	 Negativo	 Negativo	 Negativo
Hisopo	 Positivo (2+)	 Positivo (2+)	 Positivo (2+)	 Positivo (3+)

Tabla # 7: Kit Hem Check-1. Mtra.: T.H. + Cte.: Povidona Iodo  
Fuente: *Elaboración Propia*

MUESTRAS PROCESADAS CON KIT ACON				
MUESTRA: Tejido hemático + CONTAMINANTE: Povidona iodo				









Soporte	Tiempos de procesamiento en buffer			
	10`	30`	60`	90`
Trozo de tela	 Negativo	 Negativo	 Negativo	 Negativo
Hisopo	 Positivo (2+)	 Positivo (3+)	 Positivo (2+)	 Positivo (3+)

Tabla # 8: Kit Acon. Mtra.: T.H. + Cte.: Povidona Iodo  
Fuente: *Elaboración Propia*

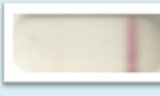





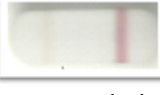


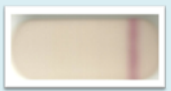






MUESTRAS PROCESADAS CON KIT HEM – CHECK-1				
MUESTRA: Tejido hemático + CONTAMINANTE: Restos terrosos				
Soporte	Tiempos de procesamiento en buffer			
	10`	30`	60`	90`
Trozo de tela	 Negativo	 Negativo	 Positivo (1+)	 Negativo
Hisopo	 Positivo (2+)	 Positivo (3+)	 Positivo (3+)	 Positivo (2+)

Tabla # 9: Kit Hem Check-1. Mtra.: T.H. + Cte.: Restos Terrosos  
Fuente: *Elaboración Propia*



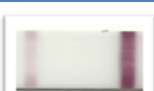
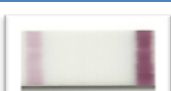
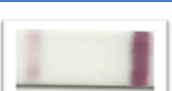
MUESTRAS PROCESADAS CON KIT ACON				
MUESTRA: Tejido hemático + CONTAMINANTE: Restos terrosos				
Soporte	Tiempos de procesamiento en buffer			
	10`	30`	60`	90`
Trozo de tela	 Positivo (1+)	 Positivo (2+)	 Positivo (2+)	 Positivo (1+)
Hisopo	 Positivo (3+)	 Positivo (3+)	 Positivo (3+)	 Positivo (3+)

Tabla # 10: Kit Acon. Mtra.: T.H. + Cte.: Restos Terrosos  
Fuente: *Elaboración Propia*

**MUESTRAS PROCESADAS CON KIT HEM – CHECK-1**

















<b>MUESTRA: Tejido hemático + CONTAMINANTE: Herrumbre</b>				
<b>Soporte</b>	<b>Tiempos de procesamiento en buffer</b>			
	<b>10`</b>	<b>30`</b>	<b>60`</b>	<b>90`</b>
Trozo de tela	 <b>Negativo</b>	 <b>Negativo</b>	 <b>Negativo</b>	 <b>Negativo</b>
Hisopo	 <b>Positivo (2+)</b>	 <b>Positivo (2+)</b>	 <b>Positivo (3+)</b>	 <b>Positivo (2+)</b>

**Tabla # 11: Kit Hem Check-1. Mtra.: T.H. + Cte.: Herrumbre**  
Fuente: *Elaboración Propia*

<b>MUESTRAS PROCESADAS CON KIT ACON</b>				
<b>MUESTRA: Tejido hemático + CONTAMINANTE: Herrumbre</b>				
<b>Soporte</b>	<b>Tiempos de procesamiento en buffer</b>			
	<b>10`</b>	<b>30`</b>	<b>60`</b>	<b>90`</b>
Trozo de tela	 <b>Positivo (3+)</b>	 <b>Positivo (1+)</b>	 <b>Positivo (1+)</b>	 <b>Negativo</b>
Hisopo	 <b>Positivo (3+)</b>	 <b>Positivo (3+)</b>	 <b>Positivo (3+)</b>	 <b>Positivo (3+)</b>

**Tabla # 12: Kit Acon. Mtra.: T.H. + Cte.: Herrumbre**  
Fuente: *Elaboración Propia*

- **Contraste entre los resultados obtenidos de las muestras procesadas con ambos ensayos inmunocromatográficos de acuerdo al contaminante empleado.**

<b>COMPARACION DE RESULTADOS OBTENIDOS CON AMBOS KITS</b>			
<i>MUESTRA: Tejido hemático + CONTAMINANTE: Bluestar forensic free</i>			
<b>Soporte</b>	<b>T.P.B.</b>	<b>HEM – CHECK-1</b>	<b>ACON</b>
Trozo tela	10'	 Positivo (2+)	 Positivo (2+)
Hisopo		 Positivo (3+)	 Positivo (3+)
Trozo tela	30'	 Positivo (1+)	 Positivo (2+)
Hisopo		 Positivo (2+)	 Positivo (3+)
Trozo tela	60'	 Positivo (2+)	 Positivo (1+)
Hisopo		 Positivo (3+)	 Positivo (3+)
Trozo tela	90'	 Negativo	 Positivo (2+)
Hisopo		 Positivo (3+)	 Positivo (3+)

**Tabla # 13: Contraste ambos kits. Mtra.: T.H. + Cte.: Bluestar**  
Fuente: *Elaboración Propia*

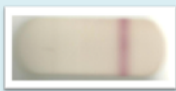



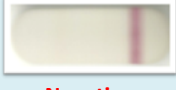
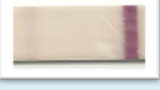
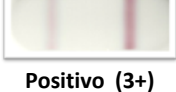
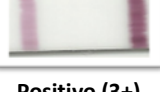
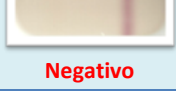

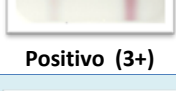
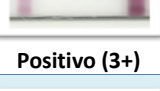
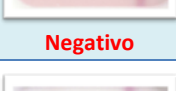
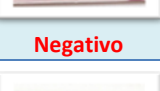
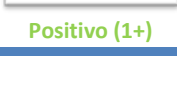

COMPARACION DE RESULTADOS OBTENIDOS CON AMBOS KITS			
MUESTRA: Tejido hemático + CONTAMINANTE: Polvo negro			
Soporte	T.P.B.	HEM – CHECK-1	ACON
Trozo tela	10'	 Negativo	 Positivo (1+)
Hisopo		 Positivo (2+)	 Positivo (3+)
Trozo tela	30'	 Negativo	 Positivo (2+)
Hisopo		 Positivo (3+)	 Positivo (3+)
Trozo tela	60'	 Negativo	 Negativo
Hisopo		 Positivo (3+)	 Positivo (3+)
Trozo tela	90'	 Negativo	 Negativo
Hisopo		 Positivo (1+)	 Positivo (2+)

Tabla # 14: Contraste ambos kits. Mtra.: T.H. + Cte.: Polvo Negro  
Fuente: *Elaboración Propia*

















COMPARACION DE RESULTADOS OBTENIDOS CON AMBOS KITS			
MUESTRA: Tejido hemático + CONTAMINANTE: Povidona iodo			
Soporte	T.P.B.	HEM – CHECK-1	ACON
Trozo tela	10'	 Negativo	 Negativo
Hisopo		 Positivo (2+)	 Positivo (2+)
Trozo tela	30'	 Negativo	 Negativo
Hisopo		 Positivo (2+)	 Positivo (3+)
Trozo tela	60'	 Negativo	 Negativo
Hisopo		 Positivo (2+)	 Positivo (2+)
Trozo tela	90'	 Negativo	 Negativo
Hisopo		 Positivo (3+)	 Positivo (3+)

Tabla # 15: Contraste ambos kits. Mtra.: T.H. + Cte.: Povidona Iodo  
Fuente: *Elaboración Propia*















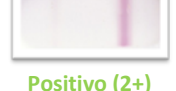
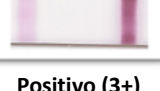
COMPARACION DE RESULTADOS OBTENIDOS CON AMBOS KITS			
MUESTRA: Tejido hemático + CONTAMINANTE: Restos terrosos			
Soporte	T.P.B.	HEM – CHECK-1	ACON
Trozo tela	10'	 Negativo	 Positivo (1+)
Hisopo		 Positivo (2+)	 Positivo (3+)
Trozo tela	30'	 Negativo	 Positivo (2+)
Hisopo		 Positivo (3+)	 Positivo (3+)
Trozo tela	60'	 Positivo (1+)	 Positivo (2+)
Hisopo		 Positivo (3+)	 Positivo (3+)
Trozo tela	90'	 Negativo	 Positivo (1+)
Hisopo		 Positivo (2+)	 Positivo (3+)

Tabla # 16: Contraste ambos kits. Mtra.: T.H. + Cte.: Restos Terrosos  
Fuente: *Elaboración Propia*

COMPARACION DE RESULTADOS OBTENIDOS CON AMBOS KITS			
MUESTRA: Tejido hemático + CONTAMINANTE: Herrumbre			

















Soporte	T.P.B.	HEM – CHECK-1	ACON
Trozo tela	10'	 Negativo	 Positivo (3+)
Hisopo		 Positivo (2+)	 Positivo (3+)
Trozo tela	30'	 Negativo	 Positivo (1+)
Hisopo		 Positivo (2+)	 Positivo (3+)
Trozo tela	60'	 Negativo	 Positivo (1+)
Hisopo		 Positivo (3+)	 Positivo (3+)
Trozo tela	90'	 Negativo	 Negativo
Hisopo		 Positivo (2+)	 Positivo (3+)

Tabla # 17: Contraste ambos kits. Mtra.: T.H. + Cte.: Herrumbre  
Fuente: *Elaboración Propia*

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alegretti, J.C. y Randimarti de Pini, N. M. (2007). “*Tratado de Papiloscopía*”. Buenos Aires: Ediciones La Rocca.
- Arbeláez Murillo L.F. y Ríos Herrera L.S. (2009). *Validación de los métodos Bluestar Forensic Free y Thevenon Roland – Piramidon como pruebas preliminares en la investigación de sangre de interés forense*. (Tesis de grado) Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Bogotá, D.C. Recuperado el 09 de abril de 2012, de <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis327.pdf>
- Ballen Torres V. y Delgado Peña, E. (2006). *Validación de una técnica inmunocromatográfica para la detección de sangre humana en manchas de interés forense en el laboratorio de biología del Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses – Regional Bogotá, empleando el kit RapiSignal occult blood – cassette, de la firma Orgenics*. (Tesis de grado). Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Bogotá, D.C. Recuperado el 09 de abril de 2012, de <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis322.pdf>
- Calabuig, G. (2004). “*Medicina Legal y Toxicológica*” (6ª ed.). Barcelona: Editorial Masson.
- Caro, P. M. (2007). “*Manual de Química Forense*”. Buenos Aires, Argentina: Ediciones La Rocca.
- Castelló Ponce, A. (2009). “*Manual de Química Forense. Hic Locus Est Ubi Scientia Gaudet Succurrere Justitiae*”. Granada: Editorial Comares.
- Claubry M. G. (1852). “*Tratado de Química Legal*”. Santiago: Imprenta y litografía de D. Juan Rey Romero.
- Dr. Schweers B., Dr. Old J., Dr. Boonlayangoor P. y Dr. Reich K. (s.f) *Developmental validation of a novel lateral flow strip test for rapid identification of human blood, RSID™- Blood*. Recuperado el 25 de

marzode2012,dehttp://www.seidden.com/Develep\_Validation\_RSID\_Blood%20112106%20v2.pdf

- Franco de Ambriz, M. (2009). “*Hematología Forense y Otras Técnicas Serológicas*”. México: Editorial Porrúa.
- Giannuzi L. y Ferrari L.A. (s.f.). “*Manual de Técnicas de Laboratorio*”. Buenos Aires, Argentina: Ediciones Praia.
- Gil, P., Verdú F., Castelló A. y Negre M.C. (2010) *Técnica de Criminalística en manchas de sangre: factor ambiental en las pruebas de orientación. Revista de la Escuela de Medicina Legal*. N° 14. Recuperado de <http://www.ucm.es/centros/cont/descargas/documento20145.pdf>
- Guzmán, C. A. (2000). “*Manual de Criminalística*”. Buenos Aires, Argentina: Ediciones La Rocca.
- Hochmeister M., Budowle, B., Sparkes R., Rudin O., Gehrig C., Thali M., Schmidt L., Cordier A. y Dirnhofer R. (1999). *Validation studies of an immunochromatographic 1- Step test for the forensic of human blood*. Recuperado el 15 de marzo de 2012, de [http://www.bluestar-forensic.com/pdf/en/hexagon\\_obti\\_validation.pdf](http://www.bluestar-forensic.com/pdf/en/hexagon_obti_validation.pdf)
- Jackson A.R. & Jackson J.M. (2004). “*Forensic Science*” (1ª ed.). England: Prentice Hall.
- Juan, H. R. [2004]. “*Introducción a la Ciencia Criminalística*”. Mendoza, Argentina: Ediciones Jurídicas Cuyo.
- Laboratorio Acon Biotech, *Acon FOB*. Prueba de Sangre Oculta Fecal de Un solo Paso en Tira.
- Laboratorio VEDALAB, *HEM – CHECK-1*. Ensayo Inmunocromatográfico, para la detección de sangre en materia fecal. Cassette.
- Microsoft® Encarta®. (2009). “Textiles” [DVD]. (s.l.): Microsoft Corporation.

- Microsoft® Encarta®.(2009). "Corrosión" [DVD]. (s.l.): Microsoft Corporation.
- Morales Trujillo, L. J. (2011). "*Enciclopedia Criminalística, Criminología e Investigación*". Tomos I y III. Bogotá: Sigma Editores.
- Nieto Alonso, J. (2002). "*Apuntes de Criminalística*". (2ª ed.). Madrid, España: Editorial Tecnos.
- Pérez, A. (1995). "*Manual Práctico de Papiloscopía*". Buenos Aires, Argentina: Editorial Policial.
- Policía Federal Argentina. (1983). "*Tratado de Criminalística*". (Tomo II La química analítica en la investigación del delito). Capital Federal, Argentina: Editorial Policial.
- Sampieri, R. H. (2003). "*Metodología de la Investigación*". (3ª Ed.). México: Editorial Mc Graw-Hill.
- Simonin, C. (1962). "*Medicina Legal Judicial*". Barcelona: Editorial Jims.
- Swander C.J. y Stites J.G. *Evaluation of the ABACard Hema Trace for the forensic Identification of human blood*. Recuperado el 13 de mayo de 2012, de [http://www.4n6shop.cz/static\\_pages\\_files/file/Hematrace\\_Michigan%20State%20Police\\_Connie%20Swander\\_Jennifer%20Stites.pdf](http://www.4n6shop.cz/static_pages_files/file/Hematrace_Michigan%20State%20Police_Connie%20Swander_Jennifer%20Stites.pdf)
- Tola J e Infiesta E. (2009). "*Enciclopedia Temática Marred*". Barcelona: Thema Equipo Editorial S.A.
- Verdú Pascual, F. A. (2006). "*Del Indicio a la Evidencia*". Granada: Editorial Comares.

- <http://es.wikipedia.org/wiki/Iodopovidona>
- [http://latinoamerica.abbottiagnostics.com/ciencia/pdf/1\\_d.pdf](http://latinoamerica.abbottiagnostics.com/ciencia/pdf/1_d.pdf)
- <http://www.aea.gob.es/media/126627/metodos%20inmunologicos.pdf>
- <http://www.Bluestar-Forensic.com>
- <http://www.cienciaforense.cl/csi/content/view/63/2/>
- <http://www.cuadernosdemedicinaforense.es/revistasanteriores/cm034/revista34art03.htm>
- <http://www.quiminet.com/articulos/aproveche-las-cualidades-desinfectantes-del-yodo-2727820.htm>
- <http://www.rae.es/rae.html>
- <http://www.textoscientificos.com/quimica/carbono>
- <http://www.textoscientificos.com/química/corrosión/tipos>

## **ABREVIATURAS EMPLEADAS**

---

<b>Ac</b>	Anticuerpo
<b>Ag</b>	Antígeno
<b>B.B.F.</b>	Bluestar Forensic Free
<b>Cte.</b>	Contaminante
<b>Mtra.</b>	Muestra
<b>T.H.</b>	Tejido Hemático
<b>T.P.B.</b>	Tiempo de Procesamiento en Buffer