

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD MULTIDISCIPLINARIA ORIENTAL  
DEPARTAMENTO DE MEDICINA  
SECCIÓN DE TECNOLOGÍA MÉDICA**



**INFORME FINAL DEL CURSO DE ESPECIALIZACIÓN:  
EN GENÉTICA FORENSE**

**TÍTULO DEL INFORME FINAL:**

VALIDACIÓN DE TÉCNICAS PARA DETECCIÓN DE SANGRE, SANGRE HUMANA Y GRUPO SANGUÍNEO ABO EN DIFERENTES SOPORTES Y CONDICIONES CON FINES FORENSES.

**PARA OPTAR AL GRADO ACADÉMICO DE:  
LICENCIATURA EN LABORATORIO CLÍNICO**

**PRESENTADO POR:**

CLAUDIA VERÓNICA CHÀVEZ MEZA N° CARNET CM15071  
MARYELINE ESMERALDA GARAY MEJÍA N° CARNET GM18097  
JEAQUELINE ESTEFANY LAZO VASQUEZ N° CARNET LV19004

**DOCENTE ASESOR:**

LICDA. XIOMARA PASTORE DE RODAS

OCTUBRE 2024  
SAN MIGUEL, EL SALVADOR, CENTROAMÉRICA

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

**AUTORIDADES**



MSC: JUAN ROSA QUINTANILLA

**RECTOR**

DRA. EVELYN BEATRIZ FARFÀN

**VIVERRECTORA ACADÈMICA**

MSC: ROGER ARMANDO ARIAS ALVARADO

**VICERRECTOR ADMINISTRATIVO**

LIC. PEDRO ROSALÌO ESCOBAR CASTANEDA

**SECRETARIO GENERAL**

LIC. CARLOS AMILCAR SERRANO RIVERA

**FISCAL GENERAL**

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**  
**FACULTAD MULTIDISCIPLINARIA ORIENTAL**

**AUTORIDADES**



MSC. CARLOS IVÀN HERNÁNDEZ FRANCO

**DECANO**

DRA. NORMA AZUCENA FLORES RETANA

**VICEDECANA**

LIC. CARLOS DE JESÙS SÀNCHEZ

**SECRETARIO**

DR. ARMANDO ARTURO CABRERA

**JEFE DEL DEPARTAMENTO DE MEDICINA**

MSC. MARTA LILIAN RIVERA

**COORDINADORA DEL PROCESO DE GRADO DE LA CARRERA DE  
LABORATORIO CLÍNICO.**

<b>1. Resumen</b> .....	<b>4</b>
<b>2. Introducción</b> .....	<b>7</b>
<b>3. Problema</b> .....	<b>8</b>
<b>3.2 planteamiento del problema</b> .....	<b>8</b>
<b>3.3 Enunciado del problema</b> .....	<b>8</b>
<b>3.4 Justificación</b> .....	<b>8</b>
<b>4. Objetivos</b> .....	<b>9</b>
<b>4.1 General</b> .....	<b>9</b>
<b>4.2 Específicos</b> .....	<b>9</b>
<b>5. Marco legal</b> .....	<b>9</b>
<b>6. Marco de referencia</b> .....	<b>10</b>
<b>6.1 Antecedentes</b> .....	<b>10</b>
<b>6.2 Marco teórico</b> .....	<b>11</b>
<b>7. Metodología</b> .....	<b>18</b>
<b>8 Formulación de hipótesis</b> .....	<b>22</b>
<b>8.1 General</b> .....	<b>22</b>
<b>8.2 Especificas</b> .....	<b>22</b>
<b>Conclusión</b> .....	<b>28</b>
<b>Anexos</b> .....	<b>29</b>
<b>Bibliografía</b> .....	<b>31</b>

## 1. Resumen.

El presente trabajo de investigación se basa en el hallazgo de manchas en las escenas de las investigaciones forenses para la resolución de casos criminales, La validación de estas técnicas es esencial para mejorar la precisión en la recolección y análisis de evidencias biológicas, lo que a su vez puede impactar de manera significativa en la resolución de crímenes y en el sistema judicial. La investigación también busca estandarizar protocolos que puedan ser adoptados por laboratorios forenses en diferentes contextos. **OBJETIVOS.** Presentar la validación de técnicas para detección de sangre humana y grupo sanguíneo ABO en diferentes soportes y condiciones con fines forenses. **METODOLOGÍA.** El estudio se basa en el estudio de tipo retrospectivo, ya que estudia una serie de técnicas para confirmar la existencia de sangre humana en una escena del crimen. Según el análisis y el alcance de la investigación es descriptivo, porque el propósito es obtener información sobre las técnicas describiendo su proceso y forma de ejecución. **RESULTADOS.** Se observó que según el tipo de prueba investigada sus resultados se evidencian de distintas formas, como en la técnica de fenolftaleína su interpretación es un cambio de color rosado brillante como un resultado positivo lo que indica presencia de sangre a diferencia de la técnica de takayama el cual se evidencia como positivo al observarse cristales romboidales de color rosa alrededor de la muestra. **CONCLUSIÓN.** En la actualidad para individualizar una mancha de sangre ya no se usa la identificación del grupo sanguíneo por ser marcador poco polimórfico.

**Palabras claves:** manchas de sangre, casos criminales, resolución de crímenes, técnicas, precisión, sistema judicial, protocolos.

### **1.1 Abstract.**

The present research work is based on the discovery of stains in the scenes of forensic investigations for the resolution of criminal cases. The validation of these techniques is essential to improve the precision in the collection and analysis of biological evidence, which in turn can significantly impact the resolution of crimes and the judicial system. The research also seeks to standardize protocols that can be adopted by forensic laboratories in different contexts. **GOALS.** Present the validation of techniques for detecting human blood and ABO blood group in different media and conditions for forensic purposes. **METHODOLOGY.** The study is based on a retrospective study, since it studies a series of techniques to confirm the existence of human blood at a crime scene. According to the analysis and scope of the research, it is descriptive, because the purpose is to obtain information about the techniques by describing their process and way of execution. **RESULTS.** It was observed that depending on the type of test investigated, its results are evident in different ways, such as in the phenolphthalein technique, its interpretation is a bright pink color change as a positive result, which indicates the presence of blood, unlike the Takayama technique, which is evidenced as positive when pink rhomboidal crystals are observed around the sample. **CONCLUSION.** Currently, blood group identification is no longer used to identify a blood stain because it is a low polymorphic marker

**Keywords:** blood stains, criminal cases, crime solving, techniques, precision, judicial system, protocols.

## 2. INTRODUCCIÓN:

El hallazgo de sangre en manchas obtenidas en las escenas de las investigaciones forenses juega un papel fundamental en la resolución de los casos criminales. Además de la identificación de sangre proveniente de un ser humano se puede tipificar el grupo sanguíneo al que pertenece y posteriormente realizar análisis de ADN. (ver tabla 1)

Entre las técnicas más utilizadas están las de Luminol, Fenolftaleína y Piramidon, como indicadores de la existencia de sangre, Takayama para confirmar su presencia, Inhibición de la Aglutinación para comprobar si la sangre es humana y Absorción-Elución para determinar el grupo ABO de la muestra.(ver tabla 2) Aunque son ampliamente utilizadas es importante establecer su sensibilidad y efectividad cuando las muestras han sido sometidas a diferentes condiciones ambientales en diferentes soportes en vista que la mayoría de casos en criminalística presentan evidencias biológicas de diversos orígenes. (ver tabla 3)

Con el fin de evaluar estas técnicas y determinar la capacidad de los procedimientos para alcanzar un resultado confiable se sometieron muestras conocidas a diferentes condiciones de temperatura, clase de soporte, dilución, ambiente y tiempo de exposición.

### **3. PROBLEMA.**

#### **3.1 Título descriptivo del proyecto.**

Validación de técnicas para detección de sangre, sangre humana y grupo sanguíneo ABO en diferentes soportes y condiciones con fines forenses.

#### **3.2 Planteamiento de problema.**

La detección de sangre, sangre humana y grupo sanguíneo ABO es crucial en el ámbito forense para la resolución de crímenes y la identificación de víctimas. Sin embargo, en la práctica forense, estos análisis pueden verse complicados por diversos factores, como el tipo de soporte en el que se encuentran las muestras (como superficies porosas, no porosas, tejidos o materiales diversos) y las condiciones ambientales en las que se hallan (como la exposición a temperaturas extremas, humedad o degradación).

Actualmente, existen varias técnicas para detectar la presencia de sangre, su origen humano y el grupo sanguíneo ABO, pero estas técnicas pueden variar en eficacia y precisión dependiendo del soporte y las condiciones en las que se realicen. La validez y confiabilidad de estas técnicas son esenciales para asegurar la correcta interpretación de los resultados en investigaciones forenses.

#### **3.3 Enunciado del problema.**

- ✓ ¿Estas técnicas son herramientas para la resolución de crímenes?
- ✓ ¿cuál es la importancia de la utilización de estas técnicas.

#### **3.4 Justificación.**

ABO, Sistema ABO ya no se usa con fines de individualizar una mancha, por el descubrimiento en los años 80 de la huella genética.

Diversidad de Escenarios Forenses: En investigaciones criminales, las pruebas de sangre pueden encontrarse en una variedad de superficies y condiciones. Desde escenas del crimen en interiores y exteriores hasta muestras en diferentes estados de conservación, la habilidad para aplicar técnicas de detección efectivas en estos escenarios es esencial para asegurar una investigación exhaustiva y precisa como lo es la precisión y confiabilidad las técnicas actuales pueden variar en su eficacia dependiendo del soporte y las condiciones ambientales, como exposición al calor, humedad o descomposición, validar estas técnicas garantiza que se elijan los métodos más confiables y precisos para cada tipo de muestra.

#### **4 Objetivos.**

##### **4.1 General.**

Presentar la validación de técnicas para detección de sangre, sangre humana y grupo sanguíneo ABO en diferentes soportes y condiciones con fines forenses.

##### **4.2 Específicos.**

Realizar un estudio comparativo de la sensibilidad y especificidad de los Test de Piramidón, Fenolftaleína, Luminol, como pruebas presuntivas para la detección de manchas de sangre.

1. Determinar que la existencia de sangre es humana a través de Inhibición de la Aglutinación.

#### **5 Marco legal.**

➤ **Sección III del departamento de patología forense.**

**Atribuciones**

**Art. 40.-**El Departamento de Patología Forense tendrá las atribuciones siguientes:

- e) Colectar y manejar las evidencias físicas y muestras biológicas obtenidas en los procesos periciales, cuidando su integridad para garantizar la cadena de custodia.
- f) Realizar ampliaciones sobre los resultados de los peritajes efectuados, cuando así lo ordene la autoridad competente.

➤ **Sección v del departamento de biología forense.**

**Atribuciones**

**Secciones del Departamento de Biología Forense**

**Art.46.-**El Departamento de Biología Forense funcionará con las secciones siguientes:

- a) **Sección de Laboratorio de Genética Forense**
- b) **Sección de Laboratorio de Serología Forense.**

**De los laboratorios de Biología Forense**

**Art. 47.-** El laboratorio principal del Departamento de Biología Forense estará ubicado en San Salvador; habrá, además, laboratorios regionales que realizarán los análisis que estén dentro de sus capacidades operativas, pero cuando se exceda la misma serán enviados al laboratorio principal.

**6 Marco de referencia.**

**6.1 Antecedentes.**

La primera referencia académica acerca de la materia fue su inclusión en 1850 en el plan de estudios de la Facultad de Medicina. Inicialmente se le denominó Práctica forense, y cinco años después, el nombre tradicional de Medicina legal.

Como modernizador de la práctica de autopsias y de la docencia, el mérito fue del doctor ROBERTO MASFERRER, quien volvió siendo especialista en Anatomía patológica, en 1944.

Por este motivo, como merecido homenaje se le dio su nombre al Instituto de Medicina legal de la Corte Suprema de Justicia, inaugurado en 1991.

## **6.2 Marco teórico.**

**Serología forense:** Es una rama de la criminalística que estudia los diferentes fluidos Biológicos, y que a menudo pueden estar en conexión con investigaciones criminales; los cuales son encontradas en forma líquida y/o manchas secas. Con el resultado de estos análisis se puede en un momento determinado asociar o no a un individuo en la participación de un hecho delictivo.

### **✓ Principio de intercambio**

Al consumarse el hecho y de acuerdo con sus características, se origina un intercambio de elementos materiales de prueba entre el autor, la víctima y el lugar de los hechos o entre el autor y el lugar del suceso.

En este estudio se evaluaron pruebas presuntivas de Piramidón, Luminol y Fenolftaleína con el fin de determinar su sensibilidad e interferencia frente a diferentes condiciones de soporte, temperatura, tiempo y ambiente. Además, se evaluaron las mismas condiciones para los test de Takayama, Inhibición de la aglutinación y Absorción-elución que determinan el origen de la sangre y tipifican su grupo sanguíneo. Tanto las pruebas presuntivas como las confirmatorias no se ven afectadas en su mayoría al variar los soportes, la temperatura o las condiciones ambientales bajo las cuales fueron almacenadas. Respecto a la sensibilidad se encontró que en las pruebas presuntivas es alta en contraposición a las

confirmatorias que requieren de muestras que no hayan sido sometidas a diluciones o lavados.

➤ **Procedimientos de los análisis efectuados.**

**PRUEBA DE FENOLFTALEINA (de KASTLE- MEYER)**

**A- Principio**

El método de Fenolftaleína es una prueba catalítica para la detección de sangre, Estos métodos dependen de una reacción de oxidación en los cuales un oxidante como el peróxido de hidrogeno oxida a un material sin color como es la fenolftaleína a un material coloreado. Este método no es específico para sangre; puede dar falsas-positivas con: cobre, níquel o ferrocianuro de potasio. La sensibilidad es estimada en 1:1 millón.

**B- Reactivos.**

200 ml	=	agua destilada
20 gr	=	hidróxido de potasio
1 gr	=	fenolftaleína
20 – 30 gr	=	Zinc granulado

1-Diluir la solución stock 1:5 con etanol.

2- Peróxido de Hidrogeno al 3%

**C- Procedimiento**

- 1- Cortar una porción de la mancha o removerla de la superficie por medio de un hisopo (el cual puede estar humedecido o no con agua destilada).

- 2- Agregar una gota de la solución de fenolftaleína.
- 3- Agregar una gota de la solución de peróxido de hidrogeno.
- 4- Leer la presencia de color, en pocos segundos.

#### **D- Interpretación.**

El desarrollo de un color rosado brillante nos da un resultado positivo, lo que indica presencia de sangre.

#### **➤ PRUEBA CONFIRMATORIA EN MANCHAS DE SANGRE**

La identificación de sangre por métodos químicos se basa en la detección de la hemoglobina y sus derivados; estos métodos pueden ser divididos en dos tipos: catalíticos y formación de cristales.

Los métodos de formación de cristales generalmente son referidos a pruebas confirmatorias de la presencia de sangre.

#### **➤ Prueba de Takayama (hemocromógeno)**

##### **A- Principio.**

Tanto la ferroprotoporfirina como la ferriprotoporfirina tienen la propiedad de combinarse con otros compuestos nitrogenados por medio de la globulina. Tales compuestos incluyen otras proteínas, hidróxido de amonio, cianuro, nicotina y piridina y los productos resultados se llaman hemocromógenos. Los cristales pueden formarse tanto en medio ácido como alcalino; sin embargo, el reactivo de Takayama es de naturaleza alcalina.

##### **B- Reactivos.**

## **Preparación del reactivo de Takayama**

### **Mezclar:**

- a) Una parte de solución saturada de glucosa.
- b) Una parte de solución de hidróxido de sodio al 10%<sup>18</sup>
- c) Una parte de piridina. (PM: 79.1 D=048)
- d) Dos partes de agua destilada

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

### **C- Procedimiento**

- a) Colocar una pequeña cantidad de muestra problema entre una laminilla portaobjetos y un cubreobjetos.
- b) Deslizar por capilaridad unas gotas del reactivo entre lámina y laminilla.
- c) Calentar la laminilla a baja temperatura durante 30 seg.
- d) Observar al microscopio.

### **D- Interpretación**

En caso positivo se observarán cristales romboidales de color rosa alrededor de la muestra. (Ver figura 3)

## **➤ ANALISIS DE SANGRE LIQUIDA.**

### **Determinación del sistema ABO.**

#### **A) Principio**

Los grupos sanguíneos se caracterizan por la presencia de proteínas llamadas antígeno (Ag), las cuales están presentes en la superficie de los glóbulos rojos. En el suero pueden estar presentes proteínas llamadas anticuerpos (Ac). (ver anexo 4)

Cuando los antígenos reaccionan con su anticuerpo homólogo ocurre la aglutinación, proceso que es usado para determinar grupo sanguíneo de una muestra.

## **B) Reactivos, material y equipo.**

### **1- antisueros preparados comercialmente:**

- a- Antisuero comercial A
- b- Lectina Anti-AI
- c- Antisuero comercial B
- d- Antisuero D

### **2- Células conocidas al 3%**

- a- Glóbulos rojos A
- b- Glóbulos rojos B
- c- Glóbulos rojos O
- d- Solución salina 0.85%
- e- Tubos de vidrio 10x 75 mm, 10x100 mm.
- f- Pipeta Pasteur
- g- Guantes
- h- Centrifuga.

## **C- Procedimiento**

- 1- Separar la sangre completa en su fracción celular y su fracción líquida, por medio de centrifugación (un minuto a 3000 RPM).
- 2- Colocar unas gotas de la fracción celular en otro tubo 10x75mm. Lavar las células de una a tres veces en solución salina al 0.85% centrifugar cada vez por un minuto a 3000 RPM. Descartando la solución salina en cada lavada.

- 3- Preparar suspensiones de 3 a 5% de las células lavadas.
- 4- Marcar tubos de 10x75 mm como sigue: A, B, AB, y D. Agregar una gota de la suspensión a cada uno.
- 5- Agregar una gota de cada uno de los siguientes antisueros: A, lectina A<sub>1</sub>, B y Anti D, a cada uno de los tubos marcados respectivamente.
- 6- Agregar una gota de las suspensiones de células conocidas 3% a los tubos marcados respectivamente a, b, y o.
- 7- Mezclar y centrifugar todos los tubos por 15 segundos a 3000 RPM.
- 8- Observar si existe aglutinación, por medio de un movimiento lento de cada tubo. (ver figura 4,5)

#### **D- Interpretación.**

Leer el grado de aglutinación por cruces en la escala de 0 a + 4.

Anotar resultados en hoja de reporte.

#### ➤ **Técnica de luminol.**

##### **A- Principio.**

La prueba de luminol es una técnica bioquímica forense muy útil y la más apropiada para la detección de manchas de sangre, cuando se va a realizar el estudio de manchas de sangre escondidas a simple vista, manchas de data antigua dejadas en ambientes abiertos y cerrados, soportes sometidos a diferentes procedimientos de limpieza o lavado, manchas de sangre diluida, todas son útiles para el análisis forense.

#### ➤ **Material y métodos**

##### **Muestras**

Se analizó manchas de sangre sobre diferentes soportes absorbentes (tela de algodón, prendas, calzados, madera, cartón, papel) y soportes no absorbentes

(madera tratada, vidrio, lavamanos, mosaico, pintura de auto, cuchillos, sierras), sometiéndose a diferentes intervalos de tiempo, se realizó diluciones de la sangre para evaluar la sensibilidad del método, utilizando sangre humana del Grupo ORh + con anticoagulante EDTA al 5%

### **B- Preparación de Luminol**

1. Pesar 8 g de Hidróxido de Sodio y disolverlo completamente en 0.5 L de agua deionizada. (Sol. I)
2. Medir 10 mL de Agua Oxigenada al 30%, añadir 0.49 L de agua deionizada. (Sol.II).
3. Pesar 0.354 g Luminol, disolverlo en 0.625 L de la **Sol. I** y enrasar a 0.5 L (**Sol. III**)
4. Conservarlos a 4°C, y proteger de la luz. (**Solución de trabajo**).
5. Prepare la Solución de Prueba mezclando 10 mL cada uno de las soluciones a 70 mL de agua deionizada para obtener 100 mL de solución de trabajo.
6. Llevar esta solución en un atomizador y está listo para usar.

### **C- Método**

Se realizó una serie de diluciones de sangre humana con solución fisiológica. (Diluciones: 1:10, 1:100, 1:1000, 1:10.000, 1: 100.000). Las manchas fueron realizadas sobre diferentes soportes y analizadas en intervalos de tiempos de una semana, cuatro semanas, cuatro meses, utilizándose una esponja para realizar las manchas. (ver figura 7)

### **Aplicación del luminol sobre los soportes**

El reactivo Luminol fue preparado 12 horas antes de su aplicación, el rociado se realizó con un spray atomizador a una distancia de 50 cm del objetivo, las fotografías

con la cámara en modo Fluorescente fueron tomadas entre los 15 segundos a 1 minuto en ambiente oscuro (Quickenden, 2001).

## **D-Resultados**

La prueba de Luminol permitió localizar y detectar manchas de sangre en diversos soportes sometidos a diferentes condiciones.

## **7 Metodología.**

### **MATERIAL Y MÉTODO:**

#### **Muestras, soportes y condiciones.**

Se procedió a realizar manchas patrón con una muestra conocida para evaluar la efectividad de los procedimientos frente a diferentes soportes, temperaturas, tiempo, contaminantes y diluciones para analizar la sensibilidad de la técnica. Se tomó muestra de sangre por punción venosa en tubo con anticoagulante EDTA y posteriormente se procedió a realizar manchas sobre Algodón, Tela de Algodón, Seda, Lino, Satín, Jean delgado y Jean grueso. Se expuso a una temperatura de -20°, 4°, 37° y 60° C por periodos de tiempo de 24 horas, una semana y un mes.

#### **Test de Piramidón, Fenolftaleína, Luminol.**

##### **✓ Pretratamiento de las muestras.**

En tubos de ensayo de 16 x 100 mm marcados con el número de radicación del laboratorio y número de muestra se colocó un fragmento de la mancha de 0,5 x 0,5 cm y se agregó 1 ml de solución salina al 0.85%, dejando por el tiempo que sea necesario para separar la mancha del soporte.

##### **✓ Test de Piramidón.**

A 3 gotas de la muestra pretratada se le adicionaron 3 gotas de los reactivos de Piramidón, ácido acético y perhidrol evidenciando la reacción por un cambio de color. (+) = coloración violeta, (-) = sin cambio de color. (ver tabla 2)

✓ **Test de Fenolftaleína y Luminol.**

Estas técnicas se realizaron con el método descrito por Cox, M en 1991 para Fenolftaleína y Castello, A et al. en 2002 para Luminol. (ver tabla 4)

Con frecuencia, las ropas manchadas de sangre durante un acto violento son lavadas para tratar de eliminar los vestigios. El análisis del DNA mediante PCR ha dotado a la criminalística de la posibilidad de estudiar indicios mínimos que, con otros métodos, sería imposible analizar. Este tipo de muestra plantea una mayor dificultad en la detección de la mancha. En el presente trabajo se analiza la sensibilidad del luminol para encontrar manchas de sangre invisibles. Sobre estas manchas se intenta extraer y amplificar DNA. Los resultados indican que el luminol es muy eficaz para detectar indicios invisibles. Además, en las condiciones experimentales con las que se ha elaborado este trabajo, no se produce interferencia del reactivo en la posterior extracción y amplificación del DNA.

Un reactivo presuntivo para la detección de sangre diluida distinto del luminol es la fluoresceína. La sensibilidad de la fluoresceína se aproxima a la sensibilidad de los niveles de detección del luminol. El método de detección con fluoresceína ofrece las ventajas de trabajar en un entorno iluminado y la reacción persiste más tiempo que con el luminol. Se colocó una serie de manchas de sangre diluidas, que iban desde puras hasta 1:1.000.000, sobre una variedad de sustratos. Se hicieron tres juegos por sustrato. Un juego se expuso a fluoresceína, un juego se expuso a luminol y un juego sirvió como control no contaminado. La señal de fluoresceína persistió más tiempo que el luminol. Sin embargo, se observó tinción de fondo para fluoresceína en algunos

sustratos en un plazo de 30 s a 1 min, y no se observó tinción de fondo para luminol. Las manchas en superficies no absorbentes fueron detectables a diluciones de 1:100.000, y las manchas en superficies absorbentes fueron detectables generalmente a no más de 1:100. En este estudio, la sensibilidad de detección de la fluoresceína fue comparable a la del luminol. En todos los casos en los que se recuperó suficiente ADN, se obtuvieron resultados tipificables en los 13 loci STR centrales del CODIS a partir de manchas de sangre tratadas y controles. Los resultados de la tipificación de STR indican que no hubo evidencia de degradación del ADN. (ver figura 6)

### **Interferencia de sustancias similares a la sangre.**

Con el fin de evaluar la interferencia de sustancias que puedan generar resultados falsos positivos en la técnica de Piramidón se hicieron manchas sobre tela de algodón de la siguientes Frutas: Banano, Cereza, Ciruela, Durazno, Fresa, Limón, Mandarina, Manzana, Melón, Mora, Naranja, Pera, Piña y Uva roja; Verduras: Cebolla, Rábano, Papa, Espinaca, Uva verde, Aguacate, Frijol rojo, Repollo, Zanahoria, Coliflor, Maíz, Apio, Pepino Cocombro, Berenjena, Ajo, Lechuga, Tomate, Remolacha y Pimentón; Otras sustancias: Vino tinto, Salsa de tomate, Café, Gelatina, Bebida carbonatada y Óxido; Fluidos biológicos como saliva y orina.

### **Manchas lavadas.**

Simultáneamente se tomó una muestra de sangre por punción venosa en tubo con anticoagulante de citrato de sodio y se realizaron cuatro manchas sobre tela de algodón las cuales fueron sometidas a un lavado con agua únicamente, con agua y jabón, agua y blanqueador y a la última se le adiciono aceite de cocina.

### **Sensibilidad de las pruebas.**

Se tomaron muestras de sangre por punción venosa en tubo con anticoagulante EDTA, a cuatro personas con hemoclasificación A, B, AB y O, a las que se les hizo diluciones seriadas base 10, a partir de una dilución 1/10, así: 1/100, 1/500, 1/1.000, 1/ 5.000, 1/10.000. De estas se hicieron manchas sobre algodón para la prueba de Piramidón. Ya obtenidas las diluciones de cada grupo sanguíneo se hicieron manchas por triplicado sobre diferentes soportes como: Algodón, Tela de algodón y Papel Filtro. Para las pruebas de Piramidón, Fenolftaleína y Luminol. Para la prueba de detección de sangre por quimioluminiscencia (Luminol) se adicionaron otras diluciones además de las ya mencionadas: 1/100.000, 1/500.000, 1/1.000.000.

### **Test de Takayama.**

Muestras, soportes y condiciones. Se tomó muestra de sangre por punción venosa en tubo con anticoagulante EDTA y posteriormente se procedió a realizar manchas sobre Algodón, Tela de Algodón, Seda, Lino, Satín, Jean delgado y Jean grueso. Se expuso a una temperatura de  $-20^{\circ}$ ,  $4^{\circ}$ ,  $37^{\circ}$  y  $60^{\circ}$  C por periodos de tiempo de 24 horas, una semana y un mes. A las manchas de 24 horas se sometieron a ambientes cerrados, abiertos y en un recipiente con tierra negra.

### **Sensibilidad de la prueba.**

Se tomaron muestras de sangre por punción venosa en tubo con anticoagulante EDTA, a personas con hemoclasificación de los cuatro grupos sanguíneos del sistema ABO (A, B, AB, O), a las que se les hizo diluciones seriadas a partir de 1/10, así: 1/100, 1/500, 1/1.000, 1/ 5.000, 1/10.000.

### **Test de Takayama.**

Con una hoja de bisturí se hizo un raspado de la mancha con el fin de obtener pequeñas escamas, las cuales se colocaron entre lámina y laminilla. Luego se agregó por capilaridad una gota del reactivo de Takayama dejando en reposo

de 10 a 20 minutos. Se observó al microscopio con objetivo de 10X y 40X incluyendo controles positivos y negativos.

### **Determinación de sangre humana en manchas. Inhibición de la aglutinación.**

**Muestras, soportes y condiciones.** Las mismas del método de Takayama.

**Sensibilidad de la prueba.** Igual que en el test de Piramidón.

**Prueba de Inhibición de la aglutinación.** Se tituló el suero de Coombs y se seleccionaron las 2 diluciones que demostraron mejor lectura. La muestra pretratada (Ver test de Piramidón) se puso en contacto con las diluciones escogidas y glóbulos rojos sensibilizados al 2%. Se realizaron controles con sangre humana, sangre animal y solución salina al 0.85%.

### **Absorción - Elución.**

**Muestras, soportes y condiciones.** Igual al test de Piramidón.

**Método de absorción-elución.** Esta prueba se llevó a cabo siguiendo el descrito por Nishi, K en 1985. (ver tabla 5)

## **8 Formulación de hipótesis.**

### **8.1 Generales.**

Ya no se utiliza el sistema ABO en diferentes soportes y condiciones con fines forenses.

### **8.2 Especificas.**

Revisar la sensibilidad del test de Fenolftaleína al utilizar tela de algodón podría positivo o negativo dependiendo de la dilución.

## Resultados:

Los resultados se muestran en las tablas 1 a 9.

	SOPORTE	CONDICION						
		-20°C	4°C	37°C	60°C	AREA CERRADA	AREA ABIERTA	ENTERRADO
24 HORAS	ALGODON	+	+	+	+	+	+	+
	TELA DE ALGODON	+	+	+	+	+	+	-
	SEDA	+	+	+	+	-	+	+*
	LINO	+	+	+	+	+	+	-
	SATIN	+	+	+	+	+	+	-
	JEAN DELGADO	+	+	+	+	+	+	+*
	JEAN GRUESO	+	+	+	+	+	+	+
UNA SEMANA	ALGODON	+	+	+	+	N.P.	N.P.	N.P.
	TELA DE ALGODON	+	+	+	+	N.P.	N.P.	N.P.
	SEDA	+	+	+	+	N.P.	N.P.	N.P.
	LINO	+	+	+	+	N.P.	N.P.	N.P.
	SATIN	+	+	+	+	N.P.	N.P.	N.P.
	JEAN DELGADO	+	+	+	+	N.P.	N.P.	N.P.
	JEAN GRUESO	+	+	+	+	N.P.	N.P.	N.P.
UN MES	ALGODON	+	+	+	+	N.P.	N.P.	N.P.
	TELA DE ALGODON	+	+	+	+	N.P.	N.P.	N.P.
	SEDA	+	+	+	+	N.P.	N.P.	N.P.
	LINO	+	+	+	+	N.P.	N.P.	N.P.
	SATIN	+	+	+	+	N.P.	N.P.	N.P.
	JEAN DELGADO	+	+	+*	+	N.P.	N.P.	N.P.
	JEAN GRUESO	+	+	+*	+	N.P.	N.P.	N.P.

**Tabla 1.** Resultado de la prueba de Piramidón. + = Test positivo, la mancha puede corresponder a sangre, - = Test negativo, +\* = El test fue positivo, pero con reacción retardada, N.P.= No Procesado. Área cerrada, abierta o enterrado se refiere a que la muestra fue dejada en esa condición durante 24 horas antes de ser procesada.

PROCEDIMIENTO	Piramidón	Luminol	Fenolftaleína
Mancha lavada con agua	-	+	N.P.
Mancha lavada con agua y jabón	-	+	N.P.
Mancha lavada con agua y blanqueador	-	+	N.P.
Mancha con aceite de cocina	+	N.P.	N.P.

**Tabla 2.** Análisis de muestras con los test de Piramidón, Luminol y Fenolftaleína sometidas a diferentes procedimientos de limpieza. N.P = No se procesó.

**Tabla 3.** Sensibilidad de los test de Piramidón, Fenolftaleína y Luminol en diferentes soportes. + = Test positivo, - = Test negativo y N.P. = No se procesó

	DILUCION	GRUPO A			GRUPO B			GRUPO AB			GRUPO C	
		Algodón	Tela Algodón	Papel filtro	Algodón	Tela Algodón	Papel filtro	Algodón	Tela Algodón	Papel filtro	Algodón	Tela Algodón
Piramidón.	1/100	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	1/500	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	1/1000	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	1/5000	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-
	1/10000	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Fenolftaleína	1/100	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	1/500	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	1/1000	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	1/5000	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-
	1/10000	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-
Luminol.	1/100	+	+	+	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.
	1/500	+	+	+	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.
	1/1000	+	+	+	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.
	1/5000	+	+	+	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.
	1/10000	+	+	+	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.
	1/100000	+	+	+	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.
	1/500000	+	+	+	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.
	1/1000000	-	+	+	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.

	SOPORTE	CONDICION								
		-20°C	4 °C	37°C	60°C	AREA CERRADA	AREA ABIERTA	ENTERRADO		
24 HORAS	ALGODON	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	TELA DE ALGODON	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	SEDA	+	+	INC	-	INC	+	+	+	+
	LINO	+	+	+	+	+	-	+	+	+
	SATIN	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	JEAN DELGADO	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	JEAN GRUESO	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	ALGODON	+	+	+	+	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.
UNA SEMANA	TELA DE ALGODON	+	+	+	+	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	
	SEDA	+	+	+	+	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	
	LINO	+	+	+	+	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	
	SATIN	+	+	+	+	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	
	JEAN DELGADO	+	+	+	-	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	
	JEAN GRUESO	+	+	+	-	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	

UN MES	ALGODON	+	+	+	+	N.P.	N.P.	N.P.
	TELA DE ALGODON	+	+	+	+	N.P.	N.P.	N.P.
	SEDA	+	+	+	-	N.P.	N.P.	N.P.
	LINO	+	+	+	-	N.P.	N.P.	N.P.
	SATIN	+	+	+	-	N.P.	N.P.	N.P.
	JEAN DELGADO	+	+	+	+	N.P.	N.P.	N.P.
	JEAN GRUESO	+	+	+	+	N.P.	N.P.	N.P.

**Tabla 4.** Resultado del Test de Takayama. + = Test positivo, la mancha corresponde a sangre, - = Test negativo, N.P.= No Procesado

DILUCION	MANCHAS DE GRUPO SANGUINEOS CONOCIDO			
	A	B	AB	O
1/100	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
1/500	Negativo	Positivo	Negativo	Negativo
1/1000	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
1/5000	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
1/10000	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

**Tabla 5.** Sensibilidad del test de Takayama en diferentes soportes. + = Test positivo, - = Test negativo y N.P. = No se procesó.

	SOPORTE	CONDICION						
		-20°C	4°C	37°C	60°C	AREA CERRADA	AREA ABIERTA	ENTERRADO
24 HORAS	ALGODÓN	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
	TELA DE ALGODON	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
	SEDA	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
	LINO	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
	SATIN	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
	JEAN DELGADO	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
	JEAN GRUESO	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
UNA SEMANA	ALGODON	-/-	-/-	-/-	-/-	N.P.	N.P.	N.P.
	TELA DE ALGODON	-/-	-/-	-/-	-/-	N.P.	N.P.	N.P.
	SEDA	-/-	-/-	-/-	-/-	N.P.	N.P.	N.P.
	LINO	-/-	-/-	-/-	-/-	N.P.	N.P.	N.P.
	SATIN	-/-	-/-	-/-	-/-	N.P.	N.P.	N.P.
	JEAN DELGADO	-/-	-/-	-/-	-/-	N.P.	N.P.	N.P.
	JEAN GRUESO	-/-	-/-	-/-	-/-	N.P.	N.P.	N.P.
UN MES	ALGODON	-/-	-/-	-/-	-/-	N.P.	N.P.	N.P.
	TELA DE ALGODON	-/-	-/-	-/-	-/-	N.P.	N.P.	N.P.
	SEDA	-/-	-/-	-/-	-/-	N.P.	N.P.	N.P.
	LINO	-/-	-/-	-/-	-/-	N.P.	N.P.	N.P.
	SATIN	-/-	-/-	-/-	-/-	N.P.	N.P.	N.P.
	JEAN DELGADO	-/-	-/-	-/-	-/-	N.P.	N.P.	N.P.
	JEAN GRUESO	-/-	-/-	-/-	-/-	N.P.	N.P.	N.P.

**Tabla 6.** Resultado de la Inhibición de la aglutinación para determinar sangre humana en manchas corresponde a sangre humana. +/- Indica que no corresponde a sangre humana.

DILUCION	A			B			AB			O		
	Algodón	Tela de algodón	Papel filtro	Algodón	Tela de algodón	Papel filtro	Algodón	Tela de algodón	Papel filtro	Algodón	Tela de algodón	Papel filtro
1/100	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
1/500	+/-	+/+	+/-	+/-	+/+	+/-	+/-	+/-	+/+	-/-	+/+	+/+
1/1000	+/+	+/+	+/-	+/+	+/+	+/-	+/-		+/+	+/-	+/+	+/+
1/5000	+/+	+/+	+/+	+/+	+/-	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
1/10000	+/+	+/+	+/+	+/+	+/-	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+

**Tabla 7.** Sensibilidad de la técnica de inhibición de la aglutinación -/- indica sangre humana, +/- dudoso, +/-: No corresponde a sangre humana.

		CONDICION			
		-20 °C	4 °C	37°C	60°C
24 HORAS	SOPORTE				
	ALGODON	O	O	O	O
	TELA DE ALGODON	O	O	O	O
	SEDA	O	O	O	O
	LINO	O	O	O	O
	SATIN	O	O	O	O
	JEAN DELGADO	INC	INC	INC	INC
	JEAN GRUESO	INC	INC	INC	INC
UNA SEMANA	ALGODON	O	O	O	O
	TELA DE ALGODON	O	O	O	O
	SEDA	O	O	O	O
	LINO	O	O	O	O
	SATIN	O	O	O	O
	JEAN DELGADO	INC	INC	INC	INC
	JEAN GRUESO	INC	INC	INC	INC
UN MES	ALGODON	O	O	O	O
	TELA DE ALGODON	O	O	O	O
	SEDA	O	O	O	O
	LINO	O	O	O	O
	SATIN	O	O	O	O
	JEAN DELGADO	INC	INC	INC	INC
	JEAN GRUESO	INC	INC	INC	INC

**Tabla 8.** Absorción-elución para determinar del grupo sanguíneo ABO. La mancha utilizada pertenecía en todos los casos al grupo O. O = Concuerda con el resultado esperado, INC = Inconcluyente.

DILUCION	A			B			AB			O		
	Algodón	Tela de algodón	Papel filtro	Algodón	Tela de algodón	Papel filtro	Algodón	Tela de algodón	Papel filtro	Algodón	Tela de algodón	Papel filtro
1/1	A	A	A	B	B	B	AB	AB	AB	O	O	O
1/100	INC	A	INC	B	B	INC	AB	INC	AB	O	O	INC
1/500	INC	INC	INC	B	B	INC	AB	INC	AB	INC	O	INC
1/1000	INC	INC	INC	B	B	INC	INC	INC	AB	INC	O	INC
1/5000	INC	INC	INC	B	B	INC	INC	INC	AB	INC	O	INC
1/10000	INC	INC	INC	INC	INC	INC	INC	INC	INC	INC	O	INC

**Tabla 9.** Sensibilidad de la técnica de Absorción-elución para determinación del grupo sanguíneo ABO. A, B, AB u O = Concordancia con el resultado esperado según cada grupo evaluado, INC = Inconcluyente.

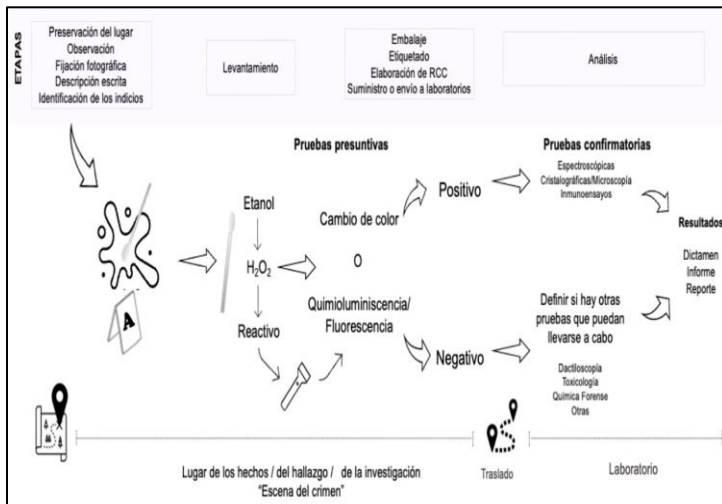
**Conclusión.**

En la actualidad para individualizar una mancha de sangre ya no se usa la identificación del grupo sanguíneo ya que es un marcador con poco polimorfismo (A, B, AB y O) siendo usadas las técnicas de PCR, electroforesis capilar para el establecimiento de perfiles genéticos en las evidencias que se analizan.

Según el artículo presente podemos concluir sobre cada una de las técnicas que se mencionan en este documento, que el luminol es extremadamente útil para detectar rastros de sangre que son visibles a simple vista, incluso en superficies limpias o lavadas. La reacción química que produce una luminiscencia azul en presencia de sangre permite encontrar indicios de sangre en escenas del crimen de forma efectiva. La fenolftaleína es eficaz para confirmar la presencia de sangre mediante un cambio de color, generalmente a un tono rosa o rojo, este método es relativamente simple y económico. El piramidon también es utilizada para confirmar la presencia de sangre, produce una reacción colorimétrica que puede ser bastante específica para la sangre, es una prueba confiable pero como con la fenolftaleína puede no ser tan sensible o efectiva en ciertas condiciones. La técnica de inhibición de la aglutinación es crucial para confirmar que la sangre es humana. Al inhibir la aglutinación, se puede distinguir entre sangre humana y no humana. Es una técnica bastante precisa, pero requiere una interpretación cuidadosa para evitar falsos positivos o negativos, especialmente si la muestra está deteriorada. La absorción-Elución este método es fundamental para determinar el grupo sanguíneo ABO. Es un procedimiento confiable para identificar el grupo sanguíneo en muestras biológicas, sin embargo, su eficacia puede verse afectada por la calidad y el estado de conservación de la muestra.

Con respecto a la aplicación práctica cada método tiene su propio conjunto de ventajas y limitaciones, en la práctica forense, a menudo se utilizan en combinación para obtener resultados más confiables y detallados, la elección del método puede detectar la naturaleza de la evidencia, las condiciones ambientales y los requisitos específicos.

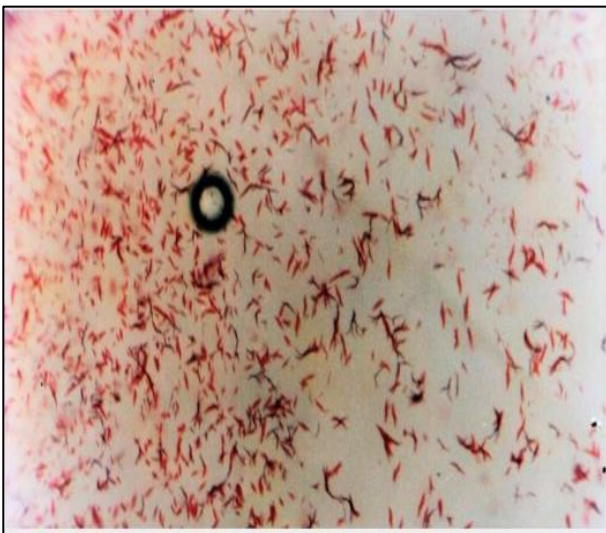
## Anexos



**Figura 1.** Representación de la investigación forense



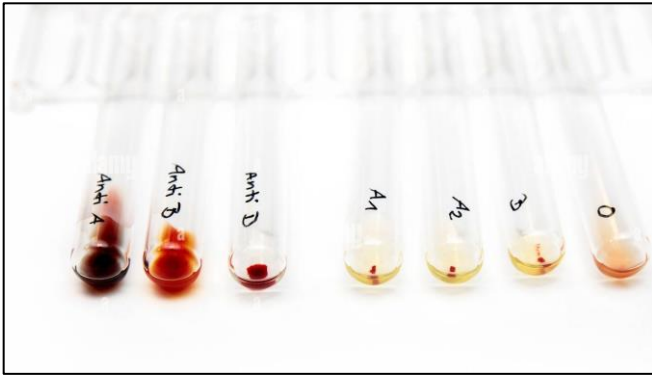
**Figura 2.** Prueba de Fenolftaleína color rosado brillante nos da un resultado positivo, lo que indica presencia de sangre.



**Figura 3.** Prueba de Takayama En caso positivo se observarán cristales romboidales de color rosa alrededor de la muestra.

Sistema ABO				
Tipo de sangre (Genotipo)	Tipo A (AA, AO)	Tipo B (BB, BO)	Tipo AB (AB)	Tipo O (OO)
Proteínas en la superficie de los globulos rojos (Fenotipo)	 Solo aglutinógenos A	 Solo aglutinógenos B	 Agglutinógenos A y B	 Sin aglutinógenos
Anticuerpos en sangre (Fenotipo)	 Solo Aglutinina b	 Solo Aglutinina a	 Sin Aglutinina	 Aglutinina a y b

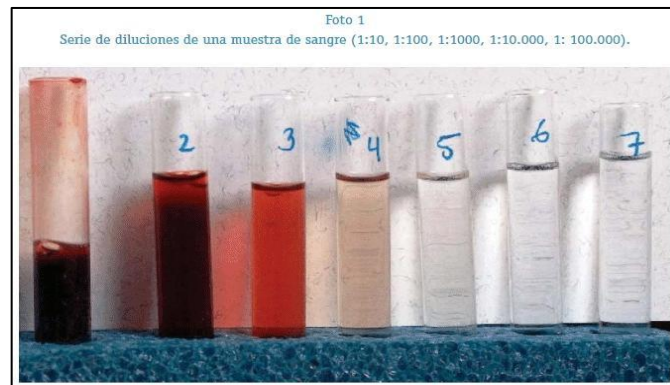
**Figura 4.** Variaciones Fenotípicas y Genotípicas de los grupos sanguíneos.



**Figura 5.** Típo realizado en tubo.



**Figura 6.** Calzado deportivo con manchas de sangre humana,



**Figura 7.** serie de dilución de una muestra de sangre.

## Bibliografía

### Bibliografía

A. Castelló Ponce1, M. Á. (Abril de 2002). *Scielo*. Obtenido de cuadernos de Medicina Forense N° 28: <https://scielo.isciii.es/pdf/cmfn28/original2.pdf>

civil, P. N. (s.f.). *Manual de Serología Forense*. El Salvador .

Gisbert JA, V. E. (s.f.). En V. E. Gisbert JA, *Medicina legal y toxicología 6° edición*. Elsevier Masson.

Medicina, N. L. (1991). *pub Med*. Obtenido de J Cuencia Forense:  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1955838/>

MR. Villegas1, M. A. (octubre de 2005). Obtenido de  
<https://scielo.isciii.es/pdf/cmfn42/original1.pdf>