

# ¿Manchas de sangre?: seguridad en pruebas de orientación.

*Bloodstains?: reliability of the presumptive test.*

---

---

M.C. Negre Muñoz<sup>1</sup>, A. Castelló Ponce<sup>2</sup>, P. Gil Pitarch<sup>3</sup> y F.A. Verdú Pascual<sup>4</sup>

---

---

## RESUMEN

El espectacular avance en la tecnología de investigación de ADN, ha supuesto un cambio radical en el estudio de indicios criminalísticos. Sin embargo, el éxito de la investigación depende, en gran medida, de las técnicas que permiten la detección y el estudio previo de la muestra. En el trabajo que sigue, se estudia la fiabilidad de estas pruebas sobre muestras contaminadas en el laboratorio con distintos productos y utilizando diferentes reactivos de orientación. Como consecuencia de la contaminación, se obtienen falsos resultados tanto positivos como negativos, comprobándose que el reactivo más fiable es el Luminol. En una experiencia complementaria se comprueba la eficacia del reactivo sobre muestras lavadas.

**Palabras clave:** *Ciencia Forense, Pruebas de orientación, Manchas de sangre, Criminalística.*

## ABSTRACT

The dramatic improvement in the DNA technology research, has meant a radical change in the study of criminal evidence. Nonetheless, the success of the research depends, to a great extent, on the techniques that allow the detection and the previous study of the sample. In the work that follows, the reliability of these tests is studied on samples contaminated with various products in the laboratory and by using several guidance reagents. As a consequence of the contamination, false results are obtained, both positive and negative, and Luminol is established as the most reliable reagent. In a complementary trial the efficiency of the reagent on washed sample was checked.

**Key words:** *Forensic science, Presumptive Test, Bloodstains, Criminalistics.*

---

Fecha de recepción: 28.OCT.03

Fecha de aceptación: 27.FEB.02

**Correspondencia:** Fernando A. Verdú. U.D. Medicina Legal. Facultad de Medicina y Odontología. Universidad de Valencia EG. Av. Blasco Ibáñez, 15. 46010 Valencia. Teléfono: 963 864 165 - 963 864 820. Fax: 963 864 165. Correo electrónico: fevepa@uv.es.

<sup>1</sup> Médico Forense. Profesora Colaboradora.

<sup>2</sup> Doctora en Ciencias Químicas.

<sup>3</sup> Profesor Colaborador.

<sup>4</sup> Profesor Titular de Medicina Legal y Forense.

## **I.- INTRODUCCIÓN:**

La investigación de manchas de sangre sigue ocupando un lugar preferente en Criminalística. Tradicionalmente, se ha venido realizando un sistema de investigación que incluye la realización de los siguientes diagnósticos [1]:

- 1.- Orientación.
- 2.- Certeza.
- 3.- Especie.
- 4.- Individual (grupos, ADN, sexo).
- 5.- Otros (antigüedad, lugar de procedencia, etc.).

La, en todos los aspectos enriquecedora, irrupción de la tecnología de investigación de ADN ha hecho que, en el momento actual, el caudal investigador se haya centrado precisamente en este campo. Sin embargo, es la propia progresión técnica en este campo, la que debe devolver un papel fundamental a los estudios que traten de perfeccionar las técnicas de orientación en el estudio de las manchas de sangre.

En efecto, desde que se introdujo la investigación del ADN en Criminalística hasta el momento actual, la técnica ha ido precisando su sensibilidad. Cada vez se necesita una cantidad menor de sangre para que, si otros factores son favorables, se pueda obtener el perfil genético del donante de la mancha [2].

Pensemos en tres situaciones:

- a.- En la primera, se remite a un laboratorio una prenda de ropa verdaderamente manchada de sangre. El sentido científico del investigador, hará que centre su esfuerzo en la obtención de la prueba de mayor peso.
- b.- En la segunda, la pieza remitida parece que está manchada de sangre. En función de la cantidad de sustrato que pueda obtenerse, con la intención de aportar algo de prueba, el investigador podrá diversificar las técnicas. Orientación, certeza y ADN parecería una buena elección.
- c.- En la tercera situación, la ropa remitida al laboratorio, simplemente está manchada. La orientación, en estos casos, debería ser la elección del investigador. Y si los resultados son favorables, tratar de individualizar el espécimen.

En las situaciones b y c, por tanto, se precisa un conocimiento exquisito de estas técnicas de orientación. Una elección inadecuada de la técnica a aplicar o una interpretación errónea del resultado, puede hacer perder un elemento de prueba que, finalmente, puede ser trascendental [3].

Numerosos trabajos [4, 5] se han centrado en dos aspectos fundamentales: la sensibilidad de las distintas técnicas de orientación y los efectos de la mezcla de sustancias con la sangre investigada.

Los resultados presentan algunas coincidencias y discrepancias, lo que pone de manifiesto la necesidad de que, en cada laboratorio, se conozca con certeza la fiabilidad y sensibilidad de las técnicas de orientación que utilizan.

Con la intención de contribuir a este fin, se presenta este trabajo.

## **2.- OBJETIVOS:**

Los objetivos perseguidos con el desarrollo de este estudio son:

- 1.- Comprobar si la mezcla de sangre con diversas sustancias, puede afectar a los resultados de las pruebas de orientación.
- 2.- Cotejar los resultados que se obtienen con dichas mezclas utilizando distintos reactivos.

### **3.- MATERIAL Y MÉTODO:**

- MATERIAL:

REACTIVOS: Bencidina (Panreac), O-Tolidina (Probus), Fenolftaleina (Panreac), Perborato de Sodio (Prolabo), Etanol (Panreac), Hidróxido de Potasio (Panreac), Polvo de Zinc (lab. d'Hemio), Peróxido de Hidrógeno (Prolabo), Acido Acético Glacial (Probus), Luminol (Merk), Carbonato de Sodio (Panreac), Agua Destilada

MATERIAL: Material de vidrio para medida de volúmenes. Material para la preparación y estudio de las muestras. Material para la extracción de sangre, soporte de la muestra (placas de cerámica). Balanza analítica. Refrigerador. Cámara de observación. Rodillete de presión.

- METODO:

#### **I.- Pruebas de orientación sobre muestras preparadas con sangre y sustancias contaminantes (sin diluir):**

- a) Preparación de la muestra: se utiliza sangre humana recién extraída (conservante EDTA). Se mezcla en tubo de ensayo 1 ml de sangre con 1 ml de sustancia contaminante. A continuación se obtienen manchas sobre el soporte de porcelana. Cada mancha contiene una gota de la muestra.
- b) Preparación de muestras control: sobre los mismos soportes se forman manchas a partir de una gota de sustancia contaminante.
- c) Preparación de los reactivos: se preparan siguiendo los métodos descritos en la bibliografía [6]. En su uso se debe tener en cuenta las normas de seguridad indicadas para productos potencialmente peligrosos [7].
- d) Pruebas de orientación con Bencidina, O-Tolidina y Fenolftaleina:
  - Se realizan pruebas de control comprobando por una parte el buen estado de los reactivos con manchas preparadas sobre papel, y de otra la reacción negativa del soporte utilizado para las muestras.
  - Se obtiene una huella de la muestra problema sobre papel de filtro humedecido con agua destilada. La prueba se aplica sobre esta huella.
  - Se repite el mismo proceso con las muestras control.
- e) Pruebas con Luminol:
  - También en este caso se realizan pruebas de control, que permiten comprobar el buen estado del reactivo, así como la reacción negativa del soporte utilizado.
  - La prueba de orientación se aplica directamente sobre la muestra problema. Las características del reactivo obligan a trabajar en cámara oscura.
  - Se realiza el mismo ensayo con las muestras control.

## II.- Pruebas complementarias sobre muestras preparadas con sangre diluida y sustancias contaminantes:

a) Preparación de la muestra: se utiliza sangre humana recién extraída que se diluye al 50%. Se seleccionan los contaminantes que en las pruebas descritas en el apartado I del método, dieron negativo en el control y positivo en la prueba de orientación. Obviamente las muestras en las que se obtuvo negativo o falso positivo, darán el mismo resultado con sangre diluida.

Para obtener las manchas se sigue el mismo procedimiento descrito en el apartado I (a) del método.

b) Se repite los puntos b, c,d y e del apartado I del método.

## III.- Prueba del luminol sobre muestras sometidas a lavado:

Se lava con agua corriente las muestras que se prepararon y estudiaron en el apartado I, a continuación se aplica la prueba del Luminol.

## 4.- RESULTADOS:

Los resultados obtenidos en la investigación, se recogen en las tablas 1 (pruebas I descritas en el apartado método), 2 (pruebas II) y 3 (pruebas III).

PRODUCTO		REACTIVO			
		BENCIDINA	O-TOLIDINA	FENOLFTAL.	LUMINOL
Choleck <sup>®</sup>	C	-	-	-	-
	M	+	+	+	+
Coca-Cola <sup>®</sup>	C	-	-	-	-
	M	+	+	+	+
Aquarius <sup>®</sup>	C	-	-	-	-
	M	+	+	+	+
Iodina <sup>®</sup>	C	+	+	-	+
	M	+	+	-	+
Lavavajillas	C	-	-	-	-
	M	-	-	-	+
Gaseosa	C	-	-	-	-
	M	+	+	-	+
Whisky	C	-	-	-	-
	M	+	+	-	+
Biofrutas <sup>®</sup>	C	-	-	-	-
	M	+	+	+	+
Café	C	-	-	-	-
	M	-	-	-	+
Leche	C	-	-	-	-
	M	+	+	+	+

TABLA 1: Pruebas de orientación sobre muestras preparadas con sangre y contaminantes.

PRODUCTO		REACTIVO			
		BENCIDINA	O-TOLIDINA	FENOLFTAL.	LUMINOL
Choleck®	C	-	-	-	-
	M	+	+	+	+
Coca-Cola®	C	-	-	-	-
	M	+	+	+	+
Aquarius®	C	-	-	-	-
	M	+	+	+	+
Gaseosa	C	-	-	-	-
	M	+	+	+	+
Whisky	C	-	-	-	-
	M	+	+	+	+
Biofrutas®	C	-	-	-	-
	M	+	+	+	+
Leche	C	-	-	-	-
	M	+	+	+	+

TABLA 2: Pruebas de orientación sobre muestras preparadas con sangre diluida y contaminantes.

CONTAMINANTE	0 (CONTROL)	MUESTRAS I
Choleck®	-	+
Coca-Cola®	-	+
Aquarius®	-	+
Iodina®	-	+
Lavavajillas	-	+
Gaseosa	-	+
Whisky	-	+
Biofrutas®	-	+
Café	-	+
Leche	-	+

TABLA 3: Prueba del Luminol sobre muestras sometidas a lavado.

A partir de los resultados obtenidos se puede calcular que la Fenolftaleína no ha detectado la presencia de sangre en la muestra en un 40% de los casos. Para la Bencidina y la O-Tolidina el porcentaje de error es del 20%.

No se ha obtenido ningún caso de falso negativo con el Luminol.

## **5.- DISCUSIÓN:**

En las condiciones experimentales de este estudio los resultados indican que es posible que la presencia de un contaminante puede impedir detectar la sangre presente en una muestra. Y esto puede ocurrir incluso en muestras con alta concentración en sangre. Todos los reactivos de orientación con los que se ha trabajado, excepto el Luminol, han dado casos de falsos negativos. Este reactivo ha dado resultados también positivos sobre muestras sometidas a lavado. Permite detectar y delimitar las zonas donde aún quedan restos de sangre que a simple vista, no se observan.

Otro dato ya conocido sobre el Luminol es que su aplicación sobre la muestra no interfiere en las pruebas de ADN que posteriormente se realicen sobre ella [8,9]. Este reactivo es de uso muy frecuente en los Estados Unidos [10], sin embargo, curiosamente en España su utilización es muy restringida si no nula. Quizá a la vista de los resultados que se van obteniendo sobre su rendimiento su uso como reactivo de orientación debería replantearse.

## **BIBLIOGRAFIA:**

- 1.- Los indicios en Medicina Legal. En: Gisbert Calabuig JA. Medicina Legal y Toxicología 5ª Ed. Barcelona: Salvat; 1998. p. 1103-27.
- 2.- Lorente JA, Lorente M. El ADN y la identificación en la investigación criminal y en la paternidad biológica. Granada: Editorial Comares; 1995.
- 3.- Verdú, F, Castelló, A. Avances científicos frente a exigencias de la Justicia, Rev Esp Med Leg 1998; XXII ( 84-85): 5-9.
- 4.- Cox M. A Study of the sensitivity and specificity of four presumptive test for blood. J Forensic Sci 1991; 36: 1503-11.
- 5.- Castelló A, Verdú F. A, "Critical review of presumptive tests for blood stains". Forensic Sci Communications 1999; 1(2).
- 6.- Eckert, W. G., James, S. H. Interpretation of bloodstain evidence at crime scenes. New York: Elsevier; 1989.
- 7.- Safety data sheet. Merck Schuchardt, 1998.
- 8.- Gross A M et al. The effect of Luminol on presumptive tests and DNA analysis using the polymerase chain reaction. J Forensic Sci 1999; 44(4): 837-40.
- 9.- Castelló A, Alvarez M, Miquel M, Verdú F. Revelado de manchas latentes: efectividad del luminol y evaluación de su efecto sobre el estudio del DNA. Cuadernos de Medicina Forense 2002; nº 28 abril:33-36.
- 10.- James S. H., Eckert W. G. Interpretation of bloodstains evidence at crime scenes 2ª Ed. New York: CRC Press; 1999.