

ORIGINAL

INTERFERENTES EN LAS PRUEBAS QUIMIOLUMINISCENTES PARA LA LOCALIZACIÓN DE SANGRE: ESTUDIO COMPARATIVO

INTERFERANTS IN CHEMILUMINESCENT TESTS FOR BLOOD LOCALIZATION: A COMPARATIVE STUDY

María Hernández Moreno^{1,2}

1. Doctora en Ciencias Forenses. Facultad de Criminología.
2. Especialista en visualización y análisis de patrones de manchas de sangre. Universidad Internacional Isabel I de Castilla.

Enviado: 26.03.2024 | Revisado: 02.11.2024 | Aceptado: 05.11.2024

DOI: [10.59457/cmf.2024.27.02.org02](https://doi.org/10.59457/cmf.2024.27.02.org02)
Cuad Med Forense. 2024; 27(2):93-99

Resumen

La posibilidad de que los reactivos quimioluminiscentes reaccionen emitiendo falsos positivos ante muestras derivadas de elementos como metales, limpiadores u hortalizas, sin ser ni contener restos de sangre, supone un verdadero problema para los especialistas encargados de la realización de dichas pruebas. Con el objetivo de determinar el grado de sensibilidad real y las características de los resultados "falso positivo" que pueden arrojar los cuatro reactivos más empleados por las Fuerzas y Cuerpos de Seguridad del Estado y de otros países europeos, se desarrolla la presente investigación.

Se han seleccionado nueve interferentes, generándose un total 36 muestras que han sido pulverizadas por cada uno de los test elegidos previamente activados: Lumiscene, Luminol, Bluestar Forensic y Bluestar Forensic Magnum. Los resultados obtenidos, aunque demuestran que ninguno de ellos es específico al reaccionar, de media, con cinco de los nueve elementos seleccionados, permite constatar que, prestando atención a la duración e intensidad de la luminiscencia obtenida, pueden diferenciarse estos resultados de los que se obtienen ante la presencia de sangre pura, lográndose con ello su distinción. Con lo que se pone de manifiesto la necesidad de que los especialistas encargados del estudio de la sangre en la escena cuenten con formación específica que les permita conocer estos matices de los test y la forma en la que se comportan ante diferentes circunstancias, evitando errores insalvables en la investigación.

Abstract

The possibility that chemiluminescent reagents react by emitting false positives with samples that derived from elements such as metals, cleaners or vegetables, without being or containing traces of blood, represents a real problem for the specialists in charge of carrying out these tests. With the aim of determining the degree of real sensitivity and the

Palabras clave:

Elementos interferentes;
Falso positivo;
Luminol.

Key words:

Interfering elements;
False positive;
Luminol.

Correspondencia:

María Hernández Moreno

Email: mahemog4@hotmail.com

characteristics of the “false positive” results that the four reagents most used by the State Security Forces and Corps and other European countries can yield, this investigation is carried out. Eight interfering have been selected, generating a total of 36 samples that have been sprayed by each of the chosen tests previously activated: Lumiscene, Luminol, Bluestar Forensic and Bluestar Forensic Magnum. The results obtained, although they demonstrate that none of them are specific when reacting, on average, with five of the nine selected elements, allow us to confirm that, paying attention to the duration and intensity of the luminescence obtained, these results can be differentiated from those that were obtained in the presence of pure blood, thereby achieving their distinction. This proves the need for the specialists in charge of studying blood at the scene to have specific training that allows them to know these nuances of the tests and the way in which they behave in different circumstances, avoiding insurmountable errors. on the research.

INTRODUCCIÓN

La presencia de sangre en las escenas criminales, especialmente en las que se producen delitos que atentan contra la vida y/o la integridad física, precisa de herramientas y técnicas cada vez más especializadas, que permitan que la labor de los analistas durante la inspección de la escena y el análisis de patrones de manchas de sangre se lleve a cabo de forma eficaz y garante.

En ciertas ocasiones, ante la posibilidad de que la sangre se encuentre en estado latente, se emplean diferentes químicos que permiten materializar su presencia en el escenario gracias a una reacción de oxidación que se materializa en luminiscencia, logrando con ello que la información que encierran las manchas de sangre sea visible (1-7).

Sin embargo, y a pesar de la sensibilidad de los reactivos químicos empleados, capaces de localizar sangre en cantidades ínfimas (8), su especificidad no es total, al poder obtenerse resultados positivos ante la presencia de ciertas sustancias que, sin ser ni contener sangre, arrojan cierta luminiscencia y pueden inducir a error (4, 9-12).

Las sustancias elegidas atienden a la clasificación de Barni et al. (13) que establece tres grandes grupos de posibles interferentes divididos en: sustancias y componentes con una actividad catalítica o peroxidasa similar a la de la sangre; componentes con una capacidad elevada de oxidación y elementos de composición química compleja con un mecanismo de acción indefinido hacia la mezcla de luminol.

Es por ello por lo que la mayoría de las investigaciones consultadas concuerdan en limitar el listado de sustancias interferentes a metales, limpiadores de uso doméstico (lejía), peroxidases presentes en frutas y verduras (cebolla, rábano picante, nabo, plátano, frutos rojos, patata, zanahoria, cítricos...) y diferentes sustratos de tierra (14-16).

Sus resultados, aunque parejos a nivel mayoritario, muestran ciertas discrepancias al variar las cantidades, tanto del elemento como del reactivo las características de las superficies sobre las que se asientan y los métodos empleados en la investigación (pulverización del reactivo, tratamiento del interferente, etc.), razón por la cual se desarrolla esta investigación, que tiene por objetivo analizar las reacciones con nueve sustancias ampliamente aceptadas como interferentes y tratar así de demostrar si existe algún reactivo quimioluminiscentes entre los cuatro más empleados en la actualidad para la localización de restos hemáticos que presente un menor índice de falsos positivos, tratando así de determinar cuál es el más recomendable, valorando su especificidad.

MATERIAL Y MÉTODOS

Interferentes

En la siguiente tabla se recogen los nueve elementos escogidos para la realización del experimento y las cantidades que se tomaron en consideración para el mismo de cada uno de ellos (Tabla 1).

Tabla 1. Elementos empleados en el experimento.

Leche (10 mL)	Bebida de cola (10 mL)
Césped (10 gr)	Patata cruda (1 ud)
Cebolla blanca cruda (1 ud)	Plátano (1 ud)
Zanahoria cruda (1 ud)	Moneda de cobre (4 uds)
Lejía (10 mL)	

Se optó por ellos al contener elementos que actúan como catalizador de la reacción de oxidación tales como metales, peroxidasas vegetales y otros químicos.

tros de largo y otros cuatro centímetros de ancho, tal y como recoge la siguiente imagen:

Reactivos quimioluminiscentes:

Se empleó, además, un kit de cada uno de los cuatro reactivos seleccionados:

- Luminol "Nite-Site". Lynn Peavey Company.
- Bluestar Forensic.
- Bluestar Forensic Magnum.
- Lumiscene. Loci Forensics.

Soporte:

La naturaleza de los elementos interferentes escogidos requería de la necesidad de optar por un soporte absorbente, que permitiese que quedasen recogidos por la propia superficie en una concentración elevada.

Por este motivo se optó por un tejido de loneta, que cuenta con un entramado plano de trama y urdimbre que se traduce en una distribución radial del elemento, extendiéndose desde el centro hacia los extremos. Las variaciones en el tamaño y la forma de la mancha vendrán determinadas en función de la cantidad depositada y de la densidad de la propia sustancia.

Para lograr soportes parejos, se realizaron recortes con medidas de cuatro centíme-

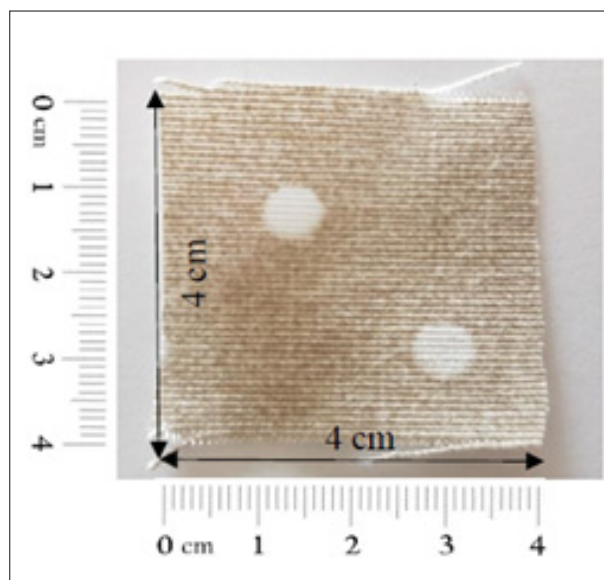


Figura 1. Superficie de loneta empleada en el experimento.

Materiales:

- Material fungible:
 - Pipetas de 1 ml (8).
 - Agua destilada.
 - Placas de Petri (8).
 - Espátulas de plástico (8).
 - Pulverizadores de plástico (4).
 - Pegatinas adhesivas.
 - Papel absorbente.

- Material no fungible:
 - Trípode modulable.
 - Rotuladores permanentes.
 - Cuencos de cristal.
 - Balanza de precisión.
- Material informático
 - Ordenador portátil HP 15-dao148ns I7-7500U.
 - Nikon D5100.
 - Objetivo Nikon AF-S DX Nikon 18-105mm f/3.5-5.6G ED VR.
 - Cámara de fotos del dispositivo móvil Samsung Galaxy S20FE 5G.
 - Microsoft Office Profesional Plus 2019.

Procedimiento:

Fase I: creación de las manchas.

Para la consecución del experimento se procedió, en primer lugar, a la creación de las manchas en la superficie elegida, habiendo quedado ésta preparada y referenciada previamente. En el caso de los interferentes líquidos, se dejó caer una gota con una de las micropipetas plásticas. Con los elementos sólidos se rayó o aplastó cada elemento para poder generar un depósito en la tela, salvo con la moneda, que recibió directamente el químico.

Fase II: preparación de los reactivos.

Para la activación de los reactivos quimioluminiscentes se siguieron las instrucciones de los fabricantes incluidos en cada uno de los kits adquiridos, empleándose espátulas, micropipetas y la balanza de precisión para garantizar la correcta mezcla de todos los ingredientes. Se siguieron además las medidas de seguridad oportunas, trabajándose con equipos de protección individual tales como bata, guantes, gafas y mascarilla.

Fase III: pulverización y análisis.

La última fase se centró en la pulverización de los reactivos sobre las manchas objeto de estudio preparadas. Para ello, se colocó el trípode con la cámara, ya configurada de forma manual, perpendicularmente sobre las muestras, a una distancia de 50 centímetros. Los parámetros introducidos fueron: ISO 100, f 5,6, 10" de tiempo de exposición, sin flash y sin zoom.

Para comprobar que el test había quedado correctamente activado, se pulverizó sobre una mancha de sangre de control, que no había sido contaminada ni sometida a otras sustancias.

Tras ello, se agruparon las nueve muestras y se procederá, al tiempo que se apretó el disparador de la cámara, a pulverizar de forma controlada el reactivo sobre los soportes, repitiéndose hasta haber empleado los cuatro reactivos.

Los resultados obtenidos quedaron recogidos para su posterior análisis, contando igualmente con las imágenes capturadas.

RESULTADOS

Las fotografías realizadas, debido a la tenue luminiscencia registrada, no pueden ser aportadas al percibirse la reacción lumínica. Sin embargo, en el laboratorio sí logró observarse, sin ayuda de luces forenses, esa luminiscencia tras pulverizar algunos de los elementos seleccionados, detallándose en la tabla dispuesta a continuación con un "+" los positivos, y con un "-" los negativos.

Los resultados fundamentales se hallan recogidos en la tabla 2.

La imposibilidad de lograr que quedasen captados por la cámara indica la baja calidad de la luminiscencia obtenida en dichas reacciones, manteniéndose, además, durante un periodo de tiempo considerablemente inferior al respecto de los resultados obtenidos con la sangre empleada como muestra de control.

Cabe una única similitud, por intensidad, en el caso de la lejía, si bien, y como quedará recogido en el siguiente apartado, sigue presentado grandes diferencias.

DISCUSIÓN

Los resultados positivos logrados con las muestras de zanahoria, patata, césped y plátano eran los esperados, al ser sustancias que cumplen la función catalizadora o peroxidasa en la reacción

Tabla 2. Resultados obtenidos para cada interferente y cada reactivo

Test elemento	Luminiscene	Luminol	Bluestar Forensic	Bluestar Forensic Magnun
Patata	+	+	+	+
Bebida de cola	+	+	+	+
Plátano	+	-	-	-
Cebolla	-	-	-	-
Zanahoria	-	+	+	+
Leche	-	-	+	-
Moneda de cobre	+	+	+	+
Lejía	+	+	+	+
Césped	-	-	-	-

(4, 10, 12). Misma premisa se aplica a la moneda, al contener metal y a la lejía, al tratarse de un producto con una alta capacidad oxidante (13). En el caso del refresco de cola, al contener, entre otros elementos, edulcorante E-952, se esperaba igualmente que pudiese actuar como catalizador de la reacción y arrojar ese falso positivo, replicando los resultados de Negre Muñoz et al, (17).

En el caso de la leche, diferentes investigaciones previas habían arrojado, tanto resultados positivos (17), como negativos (18) y lo mismo ocurría con la cebolla (14-16). Se desconoce si esa dualidad de resultados con ambas muestras puede haberse producido por la elección de la cantidad del elemento, por su procesamiento o por la selección del propio producto, al existir en el mercado variedades diferentes tanto de cebolla, como de tipos de leche de vaca. Debe valorarse igualmente una diferencia de resultados en base a la propia composición de los reactivos químicos, aceptándose los cambios en sus elementos a pesar de partir todos ellos del luminol como base.

En cuanto a la lejía, más allá de aceptar el falso positivo obtenido con todos los test, ha de

destacarse que la intensidad de la luminiscencia obtenida fue la que más se asemejaba a la sangre, tal y como era de esperar en base a los estudios consultados (14; 19-21). Su duración, sin embargo, apenas se mantuvo durante unos segundos, y se presentó en forma de fogonazo de manera irregular por la superficie, diferenciándose de la obtenida durante las pruebas de control con depósitos hemáticos.

El análisis de todos esos resultados, y precisamente de la duración e intensidad de los falsos positivos obtenidos permiten discernir entre esas reacciones y las observadas con sangre, logrando con ello aislar estos casos concretos, y evitar restar valor a los test, o desprestigiar su capacidad orientativa para la localización de esos restos biológicos.

Ahora bien, huelga decir que los resultados de las pruebas de los reactivos como el Luminol o el Lumiscene, son, como su nombre indica, orientativos y, por ende, no vinculantes, debiendo acudir de forma posterior, bien en la propia escena con un test de certeza, bien en los laboratorios forenses a través de pruebas serológicas, a la concreción de la composición real

de la muestra objeto de estudio, demostrando que aquello que ha reaccionado a nuestro test, es realmente sangre. Con ello se evitarán problemas como los recogidos por Garret y Neufeld (22) que evidenciaron que, en 82 de las 197 sentencias firmes estudiadas en Estados Unidos, los informes aportados desde el análisis de patrones de manchas de sangre quedaban invalidados al recoger errores en sus resultados o conclusiones, llegando incluso a aceptar como suficientes los resultados de los reactivos quimioluminiscentes sin recogerse análisis de certeza.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos permiten afirmar que Luminol, Lumiscene, Bluestar Forensic y Bluestar Forensic Magnum arrojan falsos positivos ante determinadas sustancias y elementos interferentes que ni son ni contienen sangre; todos ellos han reaccionado positivamente ante la moneda y las muestras de patata, refresco de cola y lejía.

No puede afirmarse cuál de ellos es más o menos recomendable al no existir claras diferencias, pues de un total de 9 elementos analizados, se obtuvieron entre 5 y 6 falsos positivos. Si puede concluirse que, por ese mismo motivo, ninguno de ellos es específico de forma exclusiva para localizar sangre.

Por todo ello, y a pesar de que ni la calidad de la luminiscencia ni el tiempo de duración se asemejan a la reacción que se obtiene ante muestras hemáticas, se recomienda la realización pruebas de certeza para obtener resultados garantes y objetivo

CONFLICTO DE INTERESES

La autora de este artículo declara no tener ningún tipo de conflicto de intereses respecto a lo expuesto en el presente trabajo.

FUENTES DE FINANCIACIÓN

Ninguna.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bevel T, Garner R. M. Bloodstain pattern analysis whit an introduction to crime scene reconstruction. Boca Ratón:CRC Press; 2008. 440 p.
2. Carreño Ríos, L. Técnicas utilizadas en hematología forense. México. Colegio Libre de Estudios Universitarios [Internet]. México:criminalista.mx;2013. [visitado 2 de Nov 2024]. Disponible en: <https://criminalistica.mx/areas-forenses/hematologia-y-serologia/1521-tecnicas-utilizadas-en-hematologia-forense>
3. Cedrón JC. El luminol. Rev Quim [Internet] 2011;25(1-2):13-4. [visitado 2024 nov 2] Disponible en: <https://revistas.pucp.edu.pe/index.php/quimica/article/view/4606>
4. Koen WJ, Bowers M. Chapter 8: Presumptive and confirmatory blood testing. En: Koen WJ, Bowers M, Editores. Forensic Science Reform. Protecting the innocent. San Diego: Academic Press;2017. p. 239-269. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802719-6.00008-X>.
5. Cheyne M. Illuminating latent blood. application methods, fixatives, alternatives and new formulas for luminol. Auckland: The University of Auckland;2011. 215p.
6. Patel G, Hopwood A. An evaluation of luminol formulations and their effect on DNA profiling. Int J Legal Med.2013; 127 (4): 723-9. DOI: 10.1007/s00414-012-0800-9
7. Royo Villanova R. La sangre en el lugar del suceso. Anuario de derecho penal y ciencias penales.1967:20.
8. Hernández Moreno, M. Reactivos quimioluminiscentes para la localización de sangre en las escenas delictivas: Lumiscene. Prueba comparativa de sensibilidad. Gac Int Cienc Forense.2021;39:61-69. Disponible en: https://www.uv.es/gicf/4A5_Hernandez_GICF_39.pdf
9. Arbeláez Murillo L, Herrera Ríos L. Validación de los métodos bluestar forensic free y thevenon roland-piramidón como pruebas preliminares en la investigación de sangre de interés forense [Trabajo fin de grado]. [Bogotá DC] Pontificia Universidad Javeriana; 2009. 137 p. Disponible en: <https://1library.co/document/6zkw4dez-validacion-metodos-bluestar-forensic-thevenon-piramidon-preliminares-investigacion.html>

10. Gomes, C., López-Matayoshi, C., Palomo-Díez, S., López-Parra, A. M., Cuesta-Álvaro, P., Baeza-Richer, C., et al. Presumptive tests: A substitute for benzidine in blood samples recognition. *Forensic Sci Int Genet.* 2017;6:e546-e548 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fsigss.2017.09.213>.
11. James SH, Kish PE, Sutton TP. Principles of bloodstain pattern analysis: Theory and practice. Boca Ratón: CRC Press Edition:2005. 576p.
12. Santos Lovatón JE. Análisis reconstructivo forense mediante patrones de manchas de sangre. 2ª Edición. [Internet] Santiago de Chile: Ediciones Jurídicas de Santiago; 2016. [Actualizado 2016 Nov, visitado 2024 Nov 2], 178p. Disponible: <https://emiliovillagra.github.io/taller-escusub/pdf/sangre.pdf>
13. Barni F, Lewis SW, Berti A, Miskelly GM, Lago G. Forensic application of the luminol reaction as a presumptive test for latent blood detection, *Talanta.* 2007; 72 (3): 896-913. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2006.12.045>.
14. Andersson R. An evaluation of two presumptive blood tests and three methods to visualize blood. [Bachelor Thesis] [Linköping] Linköping University. 2017.47 p. Disponible: <https://liu.diva-portal.org/smash/get/diva2:1131528/FULLTEXT01.pdf>
15. Creamer JI, Quickenden TI, Apanah MV, Kerr KA, Robertson P. A comprehensive experimental study of industrial, domestic and environmental interferences with the forensic luminol test for blood. *Luminescence.* 2003; 18 (4):193-8. DOI: 10.1002/bio.723
16. Pex O. The use and limitations of luminol in bloodstain pattern analysis. *IABPA News.*2005;21(4):11-16. Disponible en: https://iabpa.org/docs/December_2005_News.pdf
17. Negre-Muñoz MC, Castelló-Ponce A, Gil-Pitarch P, Verdú-Pascual FA. Manchas de sangre: Seguridad en pruebas de orientación. *Cuad Med Forense.* 2003; 34: 29-34. Disponible en: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1135-76062003000400003&lng=es&nrm=iso&tlng=es
18. Gulekci Y, Cavus Yonar F. False Positives in Luminol Testing. *BSJ Eng Sci.* 2024;7(1):129-138. DOI: 10.34248/bsengineering.1391613
19. Castelló A, Francés F, Verdú F. Bleach interference in Forensic luminol test on porous surfaces: more about the drying time effect. *Talanta.* 2009;77(4):1555-7. DOI: 10.1016/j.talanta.2008.09.008
20. Passi N., Garg R.K., Yadav M., Singh R.S., y Kharoshah, M.A. Effect of luminol and bleaching agent on the serological and DNA analysis from bloodstain. *Egyptian J Forensic Sci.*2012;2(2):54-61. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejfs.2012.04.003>
21. Webb SK. Luminol vs. BlueStar®: A comparison study of latent blood reagents. [Internet]. Mónaco: BlueStar-Forensic.com; 2008. Disponible en: https://www.bluestar-forensic.com/wp-content/uploads/2020/09/st_louis_comparison_study.pdf
22. Garret B., y Neufeld P.J. Invalid Forensic Science Testimony and Wrongful Convictions. *Virgina Law Review.* 2009; 95 (1): 1-97. Disponible en: https://scholarship.law.duke.edu/faculty_scholarship/3861/

Si desea citar nuestro artículo:

Hernández Moreno M. Interferentes en las pruebas quimioluminiscentes para la localización de sangre: estudio comparativo. *Cuad Med Forense.* 2024; 27(2):93-99. DOI: 10.59457/cmf.2024.27.02.org02