



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E
HISTOPATOLÓGICO.

TESINA DE GRADO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

LICENCIADOS EN CIENCIAS DE LA SALUD EN
LABORATORIO CLINICO E HISTOPATOLÓGICO

TEMA:

**“DETERMINACIÓN DE SANGRE HUMANA EN MÁCULAS
PRODUCIDAS POR ASESINATOS QUE SE INVESTIGARON EN EL
CENTRO FORENSE TUNGURAHUA CINCO AÑOS DESPUÉS DE SU
PRIMER ANÁLISIS PARA CONFIRMAR LA INALTERABILIDAD DE
LOS RESULTADOS DURANTE EL PERIODO DICIEMBRE 2015 -
MAYO 2016”**

AUTORES:

LUIS MIGUEL VACA CARDENAS
ELVIS GEOVANNY PARCO BARRAGÁN.

TUTORA:

Lcda. VERÓNICA CÁCERES

RIOBAMBA – ECUADOR

2016



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO.

**TESINA DE GRADO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO
DE LICENCIADO EN CIENCIAS DE LA SALUD EN
LABORATORIO CLINICO E HISTOPATOLÓGICO**

TEMA

**“DETERMINACIÓN DE SANGRE HUMANA EN MÁCULAS
PRODUCIDAS POR ASESINATOS QUE SE INVESTIGARON EN EL
CENTRO FORENSE TUNGURAHUA CINCO AÑOS DESPUÉS DE SU
PRIMER ANÁLISIS PARA CONFIRMAR LA INALTERABILIDAD DE
LOS RESULTADOS DURANTE EL PERIODO DICIEMBRE 2015 -
MAYO 2016”**

**PRESENTADO Y APROBADO ANTE EL TRIBUNAL CONFORMADO
POR:**

Lic. Mercedes Balladares

PRESIDENTE

MsC. Mery Alvear

MIEMBRO

Lic. Verónica Cáceres

TUTOR

RIOBAMBA 2016

ACEPTACIÓN DEL TUTOR

Por la presente, hago constar que he leído el protocolo del proyecto de grado presentado por los Sres. Elvis Parco y Luis Vaca, para optar al título de Licenciados en Ciencias de la Salud en Laboratorio Clínico e Histopatológico y que acepto asesorar a los estudiantes en calidad de tutor, durante la etapa del desarrollo del trabajo hasta su presentación y evaluación.



LCDA. VERÓNICA CÁCERES

DERECHO DE AUTORÍA

Elvis Parco y Luis Vaca somos responsables de las ideas, doctrinas, pensamientos y resultados expuestos en el presente trabajo investigativo y los derechos de autoría pertenecen a la UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO.



Luis Miguel Vaca

060360355-6



Elvis Geovanny Parco

020232205-3

DEDICATORIA

Esta tesis se la dedico a mi Dios quién supo guiarme por el buen camino, darme fuerzas para seguir adelante y no desmayar en los problemas, enseñándome a encarar las adversidades. A mi familia quienes por ellos soy lo que soy, por su apoyo, consejos, comprensión, amor, ayuda en los momentos difíciles, y por ayudarme con los recursos necesarios para culminar mis estudios. Me han dado todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios, mi carácter, mi empeño, mi perseverancia y coraje para conseguir mis objetivos.

Luis Miguel Daza Cárdenas

DEDICATORIA

Dedico este proyecto de tesis a Dios y a mi Familia. A Dios porque ha estado conmigo a cada paso que doy, cuidándome y dándome fortaleza para continuar, a mi Familia en especial a mi Madre quien a lo largo de mi vida ha velado por mi bienestar y educación siendo el pilar fundamental y mi mayor apoyo en todo momento. A mis hermanos, ya que depositaron su entera confianza en cada reto que se me presentaba sin dudar ni un solo momento en mi inteligencia y capacidad. Es por ellos que soy lo que soy ahora y por quienes he logrado culminar mi carrera con éxito.

Elvis Geovanny Parco Barragán

AGRADECIMIENTO

Los resultados de este proyecto, están dedicados a todas aquellas personas que, de alguna forma, son parte de su culminación.

Primeramente a Dios por permitirnos llegar hasta donde hemos llegado y poder culminar con nuestra meta siempre guiándonos por el camino correcto.

Nuestros sinceros agradecimientos están dirigidos hacia nuestras Familias quienes a lo largo de toda nuestras vidas nos han apoyado y motivado en nuestra formación académica, creyeron en nosotros en todo momento y no dudaron de nuestras habilidades y capacidades.

A nuestros profesores a quienes les debemos gran parte de nuestros conocimientos, gracias a su paciencia y enseñanza.

A esta prestigiosa universidad, la Universidad Nacional de Chimborazo, la cual abre sus puertas a jóvenes como nosotros, preparándonos para un futuro competitivo y formándonos como profesionales con sentido de seriedad, responsabilidad y rigor académico.

Finalmente un eterno agradecimiento a nuestra Tutora y Amiga la Licenciada Verónica Cáceres por sus consejos, enseñanzas, dedicación, experiencia, paciencia, motivación y todo su apoyo permanente para la realización y éxito de este Proyecto.

Luis Miguel Daza Cárdenas

Elvis Geovanny Parco Barragán

RESUMEN

El presente trabajo de investigación. Determinación de sangre humana en máculas producidas por asesinatos se investigó en el Centro de Investigación de Ciencias Forense de Tungurahua cinco años después de su primer análisis con 68 muestras tomadas de las 5 provincias de la Zona Centro del Ecuador para confirmar la inalterabilidad de los resultados durante el periodo diciembre 2015 – mayo 2016. La Determinación de sangre humana en máculas de sangre se la realizó aplicando la técnica de inmunocromatografía (ABAcad HemaTrace) mediante reacción antígeno – anticuerpo. Basados también en estudios pre establecidos, con la finalidad de colaborar con el Sistema Especializado Integral de Investigación de Medicina Legal y Ciencias Forenses. El kit ABAcad HemaTrace para determinación de sangre humana es el más empleado en el área forense sobre todo cuando hablamos de las determinaciones de fluidos biológicos, este utiliza anticuerpos monoclonales anti sangre humana que se unen al antígeno específico, formando un complejo antígeno - anticuerpo. Como conclusión podremos decir que cuando se analiza una mácula aparentemente de sangre para conocer la presencia o ausencia de la misma, en sus resultados observamos la inalterabilidad de la reacción aun siendo analizada cinco años después de su primer análisis comprobando de esta manera que se mantiene la calidad de muestra biológica en una prenda u objeto lo cual nos ayuda a su identificación aun cuando ha pasado varios años después de su almacenamiento y primer análisis.



ABSTRACT

The present work of research. Determination of human blood in macules produced by murders was investigated in the Research Center of Forensic Sciences of Tungurahua five years after its first analysis with 68 samples taken from the 5 provinces of the central zone of Ecuador to confirm the integrity of the results during the period December 2015 - May 2016. The determination of human blood in macules of blood is the carried out by applying the technique of immunochromatography (ABAcad HemaTrace) by antigen reaction-antibody. Based also on studies pre-established, with the aim of collaborating with the Research Specialized System of Legal Medicine and Forensic Sciences. The HemaTrace ABAcad kit for determination of human blood is the most used in the forensic area especially when we talk about the determinations of biological fluids, this uses monoclonal antibodies against human blood that bind to specific antigen, forming a complex antigen - antibody. As a conclusion we can say that when it analyzes a macule apparently of blood to know the presence or absence of the same, in their results, we observed the immutability of the reaction even being analyzed five years after its first analysis thereby checking it maintains the quality of biological sample in a garment or object which helps us to your identification even when it has spent several years after its storage and first analysis.

Reviewed by:

Lcda. Pilar Nina,
ENGLISH TEACHER



ÍNDICE GENERAL

Portada	I
Certificación del Tribunal	II
Aceptación del Tutor	III
Derecho de Autoría	IV
Dedicatoria	V
Agradecimiento	VI
Resumen	VII
Abstract	VIII
Indice General	IX
Indice de Tablas.	XI
Indice de Figuras.	XIII
Introducción	1
Capítulo I	3
1. Problematización.....	3
1.1 Planteamiento del Problema.	3
1.2 Formulación del Problema.	4
1.3 Objetivos.....	5
1.3.1 Objetivo General.....	5
1.3.2 Objetivos Específicos.....	5
1.4 Justificación e Importancia.....	6
Capítulo II	7
2. Marco Teorico.....	7
2.1 Posicionamiento Personal.....	7
2.2 Fundamentación Teórica.	7
2.2.1 La Sangre.	7
Función de la sangre en el cuerpo humano.	9
Composición de la sangre.	10
2.2.2 Componentes de la sangre.	12
Factores de coagulación sanguínea.....	17

Cascada de la coagulación	19
2.2.3 La sangre y el Lugar del Hecho.	22
Sangre evidencia biológica... ..	22
Clasificación de las manchas de sangre	24
El lugar del hecho	28
2.2.4 Escena el Crimen.....	30
2.2.5 Trayectoria de las manchas de sangre.	56
2.2.6 Pruebas de identificación de sangre humana en Ciencias Forenses .	57
Técnicas de orientación para la identificación de la sangre	62
Técnica de Luminol	69
Técnicas de confirmación	74
2.2.7 Inmunoensayos	84
Principio de ensayos inmunocromatográficos	86
2.2.8 Sistema Especializado Integral de Investigación en Medicina Legal y Ciencias Forenses.....	91
Área de Histopatología Forense.....	93
Área de Química y Toxicología Forense.....	94
Área de Tanatología.....	97
Área de Biología Forense.....	99
2.2.9 Determinación forense de sangre humana.	110
Introducción.....	110
Procedimiento.....	111
Materiales de manchas de sangre fresca	111
Materiales de manchas viejas almacenadas por más de 5 años.....	111
Control de Calidad.....	113
Resultados	114
2.3 Definición de terminos básicos.....	116
2.4 Hipotesis y Variables.	121
2.4.1 Hipotesis.....	121
2.4.2 Variables.....	121

2.4.3 Operacionalización de variables	121
Capítulo III	122
3 Marco Metodológico.....	122
3.1 Metodo Científico.....	122
Tipo de investigacion	124
Diseño de investigacion	124
3.2 Población y Muestra	125
3.2.1 Población.....	125
3.2.2 Muestra.....	125
3.3 Tecnicas e Instrumentos de recolección de datos.....	125
Estadísticas.....	126
3.4 Comprobación de la Hipótesis	130
Capítulo IV.....	130
4.1 Conclusiones.	130
4.2 Recomendaciones.	131
4.3 Bibliografía.....	132
Anexos	134

ÍNDICE DE TABLAS.

Tabla 1. Muestras recolectadas para la investigación.....	126
Tabla 2. Casos por provincia	127
Tabla 3. Casos identificados por género.....	128
Tabla 4. Resultados de las 68 muestras recolectadas para esta investigación y analizadas en el año 2010 y 2016.....	129
Tabla 6. Listado de resultados de las 68 muestras recolectadas para esta investigación y analizadas en el año 2010.....	137
Tabla 7. Listado de resultados de las 68 muestras recolectadas para esta investigación y analizadas en el año 2016.....	141

ÍNDICE DE FIGURAS.

Figura 1 Corazón humano	8
Figura 2 Recorrido de oxígeno por el cuerpo	9
Figura 3 Imagen de tejido sanguíneo	10
Figura 4 Composición de la sangre	11
Figura 5 Coagulación sanguínea	18
Figura 6 Vías de la cascada de coagulación clásica	20
Figura 7 Esquema de las vías de la cascada de coagulación	22
Figura 8 Mácula de sangre en soporte sólido	24
Figura 9 Mancha de proyección	25
Figura 10 Mancha de contacto	25
Figura 11 Mancha de escurrimiento	26
Figura 12 Manchas de impregnación	26
Figura 13 Lugar de los hechos	28
Figura 14 Escena del crimen	31
Figura 15 Método en peine en una escena del crimen	40
Figura 16 Método en franjas en una escena del crimen	40
Figura 17 Método en cuadros en una escena del crimen	41
Figura 18 Método en espiral en una escena del crimen	41
Figura 19 Indicios y evidencias fijas	42
Figura 20 Indicios y evidencias móviles	43
Figura 21 Perennización de la escena del crimen	44
Figura 22 Técnicas de recolección de evidencias	45
Figura 23 Marcado de evidencias	46
Figura 24 Envases de evidencias	47
Figura 25 Recepción de evidencias	48
Figura 26 Formato de cadena de custodia	50
Figura 27 Formato de informe pericial	53
Figura 28 Trayectoria de las manchas de sangre	57

Figura 29 Prueba de ADN	60
Figura 30 Prueba de Bencidina	63
Figura 31 Prueba de Kastle-Mayer	65
Figura 32 Técnica Espectroscópica	69
Figura 33 Imagen de sangre con técnica de Luminol	74
Figura 34 Imagen de cristales de hemina	76
Figura 35 Imagen de la Prueba de Takayama	78
Figura 36 Muestras para Inmunolectroforesis Cruzada	81
Figura 37 Ensayo Inmuncromatográfico	86
Figura 38 Centro de Investigación de Ciencias Forenses Tungurahua	91
Figura 39 Área de Histopatología Forense	93
Figura 40 Área de Química y Toxicología Forense	95
Figura 41 Etiquetado de Muestras	97
Figura 42 Área de Tanatología	98
Figura 43 Área de Biología Forense	100
Figura 44 Formato de formulario para solicitud de Análisis Biológico	108
Figura 45 Determinación de sangre humana	110
Figura 46 Determinación de sangre humana en manchas viejas	112
Figura 47 Control positivo y negativo para sangre humana	114
Figura 48 Resultados de la prueba de sangre humana	115
Figura 49 Representación gráfica de las muestras recolectada para la investigación	126
Figura 50 Casos por Provincia	127
Figura 51 Casos identificados por Género	128
Figura 52 Resultados de las 68 muestras recolectadas para esta investigación y analizadas en el año 2010 y 2016	129

INTRODUCCIÓN.

En el año 1000, Quintilian utilizó como prueba de un homicidio la impresión de una palma sangrante ante la Corte Romana. De esta manera es como empieza la historia de la Biología Forense y la utilización de la sangre como prueba de un delito en un proceso penal.

Con la finalidad de colaborar con el Sistema Especializado Integral de Investigación de Medicina Legal y Ciencias Forenses hemos realizado el presente Proyecto de Investigación el cual servirá para despejar alguna duda acerca de si el tiempo de almacenamiento de una evidencia influirá en el resultado si se somete a análisis años más tarde dicha evidencia, y si será totalmente confiable un resultado al analizar evidencias en estas condiciones.

El presente trabajo investigativo se fundamenta en la Determinación de sangre humana en máculas producidas por asesinatos que se investigaron en el Centro de Investigación de Ciencias Forenses Tungurahua cinco años después de su primer análisis para confirmar la inalterabilidad de los resultados, nuestro trabajo se lo realizo durante el periodo diciembre 2015 - mayo 2016”.

La técnica utilizada para esta investigación es la técnica inmunocromatográfica (ABACard HemaTrace) ya que ha sido validada y en la actualidad es una de las más utilizadas para su aplicabilidad en la identificación forense de determinación de sangre humana en maculas. Esta técnica a demostrado ser una excelente herramienta porque es específica para la hemoglobina humana y presenta un excelente nivel de sensibilidad gracias a la reacción antígeno - anticuerpo, ya que en algunos casos las muestras se encuentran, bien sea en mínima cantidad, contaminadas o muy diluidas, por lo cual su detección podría ser más difícil.

Para alcanzar la finalidad de este Proyecto es esencial demostrar experimentalmente que la prueba antes mencionada es sensible, específica con elevados porcentajes de repetitividad. Y por tanto aplicable para la determinación de sangre humana en manchas de interés forense ya sea varios años después de su primer análisis, en el caso de nuestro Proyecto de Investigación estamos analizando 68 muestras de casos de asesinatos suscitados 5 años atrás y las cuales serán analizadas nuevamente para confirmar la inalterabilidad de los resultados.

En las Ciencias Forenses, las manchas independientemente de la muestra biológica que aparente, son evidencias comúnmente evaluadas. Por mancha entendemos toda modificación en el color, toda suciedad, toda adición de una materia extraña visible o no visible, en la superficie del cuerpo humano, sobre instrumentos, o sobre un objeto cualquiera, determinada por el depósito de un producto. Este puede ser líquido, blando y algunas veces sólido, de cuyo estudio se pueden establecer relaciones en la intervención o participación de una persona o cosa en un hecho delictivo.

Los patrones de las manchas de sangre hablan mucho de la posición y del movimiento durante el crimen, que sucedió primero, de qué manera, y cuantas veces.

El aspecto de la mancha de sangre intacta sobre cualquier soporte, como de haber sido lavada, debe poner en guardia al perito, porque las lejías y los ácidos modifican las características estructurales de los componentes de las manchas, dando lugar a causas de error en la investigación.

Es por eso que debemos tener en cuenta la importancia del correcto almacenaje y manipulación de las muestras ya que en muchos casos es necesario volver a realizar un segundo análisis de las muestras almacenadas y garantizar los resultados de las mismas.

CAPITULO I

1. PROBLEMATIZACIÓN.

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

El objetivo prioritario del Sistema Especializado Integral de Investigación de Medicina Legal y Ciencias Forenses a nivel mundial consiste principalmente en la identificación de los sujetos activo y pasivo del delito en casos de investigaciones penales.

De ahí que durante el progreso de esta ciencia han surgido variedad de procedimientos y técnicas que con su aplicación se han ido perfeccionando y en otros casos descartando.

En América Latina para efectuar la individualización de personas y de procesos se emplean métodos diversos. Existen varios procedimientos directos de identificación policial y médico legal. Todos estos procedimientos son de igual importancia tales como la fotografía, el retrato hablado, la papiloscopía y la antropometría, sumados a métodos indirectos como los análisis en serología y hematología, hacen posible el propósito anteriormente mencionado.

Siendo estas técnicas utilizadas como pruebas de un delito en el campo judicial, existe la necesidad de contar con información clara.

Sobre todo teniendo en cuenta que estas técnicas son específicas para la realización de los diferentes procedimientos que se realizan en los laboratorios del Sistema Especializado Integral.

Estos centros científicos han sido dotados de infraestructuras modernas que cuentan con instrumental y equipamiento de última generación y sobre todo cuentan con personal especializado.

Para la investigación de hechos delictivos el Gobierno Ecuatoriano implementó Centros de Investigación de Ciencias Forenses los mismos que se encuentran estratégicamente ubicados en diferentes zonas del Ecuador.

Siendo así que CICF se encuentran en las ciudades de: Manta, Santo Domingo, Ambato, Machala, Loja, Nueva Loja, Esmeraldas y Cuenca.

Estas ciudades fueron escogidas considerando la incidencia de los delitos, además de su ubicación estratégica.

Con el objeto de fortalecer las investigaciones periciales, apoyando la labor de las Fiscalías Especializadas Ecuatorianas, se cumple con protocolos validados y estandarizados internacionalmente que permitan obtener resultados confiables e irrefutables en los procesos penales, a fin de lograr niveles de excelencia en la investigación de los delitos y sobre todo al momento de resolver un caso penal con justicia y transparencia.

Dentro del Área la Biología Forense del C.I.C.F. Tungurahua tenemos a la Hematología Forense que tiene como función estudiar física, bioquímicamente, serológicamente y cito histológicamente posibles manchas de sangre y muestras sanguíneas a fin de determinar su origen humano y ayudar en casos de filiación, paternidad en cadáveres y homologación de muestras incriminadas evaluadas en manchas de sangre recientes o antiguas.

1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.

¿Es importante la determinación de sangre humana en máculas producidas por asesinatos que se investigaron en el Centro Forense Tungurahua cinco años después de su primer análisis para confirmar la inalterabilidad de los resultados durante el periodo Diciembre 2015 - Mayo 2016?

1.3 OBJETIVOS.

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

- Determinar sangre humana en máculas producidas por asesinatos que se investigaron en el Centro Forense Tungurahua cinco años después de su primer análisis para confirmar la inalterabilidad de los resultados durante el periodo diciembre 2015 - mayo 2016.

1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Obtener datos de los casos de asesinatos suscitados hace 5 años atrás que fueron analizados en el Centro de Investigación de Ciencias Forenses de Tungurahua para realizar el respectivo análisis y confirmar la inalterabilidad de los mismos.
- Analizar las evidencias de casos encontrados de asesinatos de hace 5 años gracias a la técnica de inmunocromatografía cualitativa ABA CARD para la identificación de sangre humana, mediante la reacción antígeno – anticuerpo.
- Observar los resultados obtenidos del respectivo análisis y realizar cuadros y tablas estadísticas con el fin de comprobar o rechazar nuestra hipótesis.

1.4 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA.

A escala mundial, la tasa promedio de homicidios es de 6,2 por cada 100 000 habitantes. Las zonas con menos homicidios registrados cada año están en Asia del Este, el sur y el este de Europa. La violencia criminal en Ecuador cayó al nivel más bajo en 2015. Al menos, así lo refleja la barra estadística del histórico de homicidios y asesinatos, publicado por el ministro del Interior, José Serrano. De una tasa de 8,13 muertes violentas por cada 100.000 habitantes registrada en 2014, la cifra descendió a 6,39 al cierre del año pasado, ubicando a Ecuador por detrás de Chile y Argentina y superando a Uruguay.

Los casos de asesinatos son los más registrados y para obtener un resultado confiable al realizar el análisis de materiales o fluidos biológicos, sobretodo en casos de manchas de sangre, es necesario contar con técnicas validadas. Si esto no se lleva a cabo, podrían generarse grandes perjuicios y problemas muy serios, no solo a los sujetos procesales, sino a la institución y al profesional encargado.

Los servicios periciales que presta el Sistema Especializado Integral de Investigación de Medicina Legal y Ciencias Forenses como auxiliar directo de la justicia, desempeñan un papel fundamental en la investigación técnico científica de los delitos. De la capacidad de dilucidar la verdad de los hechos constitutivos del delito depende la calidad de las intervenciones especializadas e informes que se emiten.

Y como parte de esta ayuda a la Administración de justicia hay ocasiones en las que muestras analizadas de casos ya Prescritos o de hace varios años es sometida a un nuevo análisis para verificar la veracidad de los resultados obtenidos en peritajes anteriores. Se debe dar importancia desde el recojo y procesamiento de las manchas de sangre que son las evidencias más abundantes en una escena de crimen.

CAPITULO II

2. MARCO TEORICO.

2.1 POSICIONAMIENTO PERSONAL.

Una vez revisada la Biblioteca de la Universidad Nacional de Chimborazo no existe ningún tema similar al que se está proponiendo por lo que este tema es original.

La presente investigación se sustenta en la Escuela Epistemológica Pragmática porque es la doctrina filosófica según la cual la prueba de la verdad de una proposición es su utilidad práctica; el propósito del pensamiento es guiar la acción, y el efecto de una idea es más importante que su origen, considerando la relación teórica y práctica como es el conocimiento de técnicas y procedimientos así como la correcta aplicación y manejo de ellas, para alcanzar los objetivos finales de este proceso investigativo.

2.2 FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.

2.2.1 LA SANGRE.

La sangre podría ser definida como el líquido que circula por las **arterias y las venas** del cuerpo. En el hombre y los vertebrados, la sangre es de color rojo, en los insectos y crustáceos es blanca y transparente y en los moluscos blanca azulada.

Se puede concebir a la sangre como la más compleja vía de comunicación que el cuerpo tiene y que se utiliza para que este transporte entre sus distintos órganos los elementos que le son necesarios para la subsistencia.

Esta "red de comunicación" o "red de suministros" utiliza arterias, arteriolas, capilares, vénulas y venas para poder hacer fluir **la sangre** la cual se encarga

de la entrega de los componentes requeridos en cada caso y de recoger aquellos elementos que deben ser desechados del organismo.

Y esto, a través de una red que tiene más de cien mil kilómetros por la cual **el corazón** (eje central del sistema circulatorio) bombea sangre a un ritmo de cinco a seis mil litros diarios de sangre.

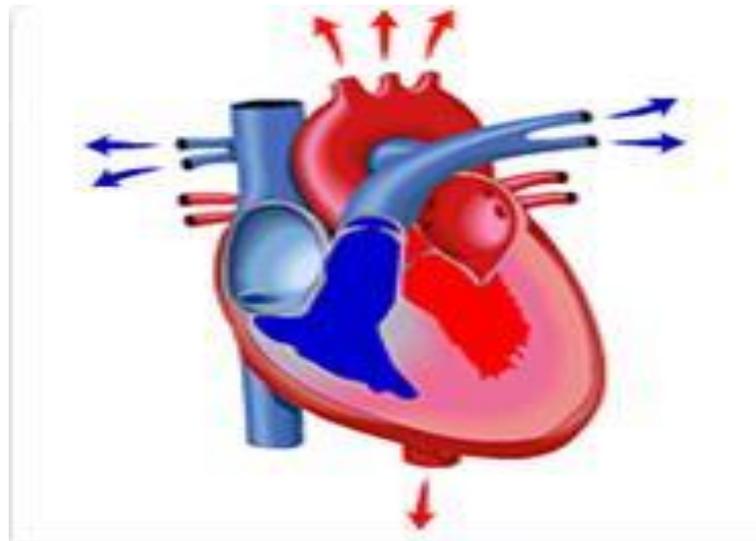


Figura 1 Corazón Humano

Fuente: <http://www.monografias.com/trabajos81/serologia-forense/serologia-forense2.shtml>

En una idea muy general diríamos que la sangre se "carga" de oxígeno en los pulmones y de ahí pasa a las arterias para ir haciendo sus entregas de este vital oxígeno. Cuando ha hecho esto, su coloración deja de ser roja y se torna azulada. De ahí, inicia un recorrido de regreso hacia los pulmones por medio de las venas y de los denominados capilares.

En los pulmones, la sangre cede el dióxido de carbono que ha captado para ser desechado, recupera una nueva carga de oxígeno y con esto vuelve a empezar su ciclo.

Este ciclo de vida se puede esquematizar de la siguiente manera:

Una vez que la sangre venosa va entregando su carga de toxinas en los distintos lugares del cuerpo por medio de los vasos sanguíneos, estas pasan al sistema de drenaje del cuerpo que es el **sistema linfático** que por medio de la linfa traslada los desechos justos a donde pueden ser procesados por el cuerpo.

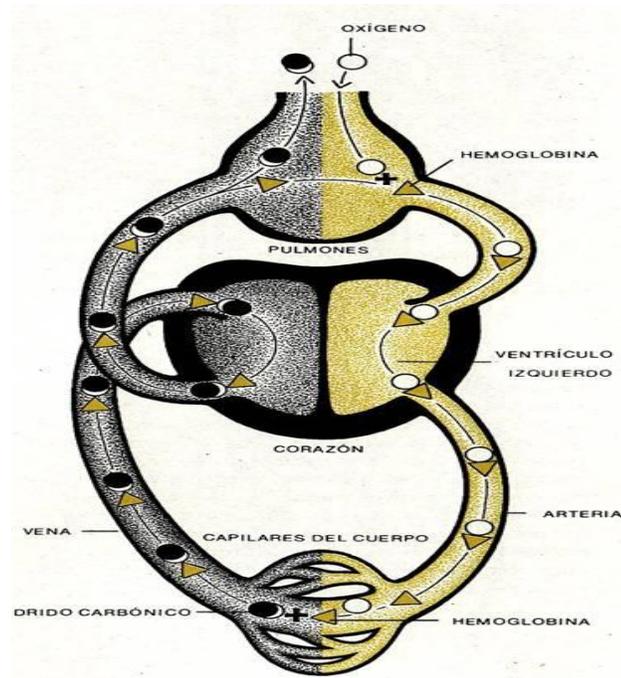


Figura 2 Recorrido de oxígeno por el cuerpo.

Fuente: <http://www.monografias.com/trabajos81/serologia-forense/serologia-forense2.shtml>

Una vez que la sangre venosa va entregando su carga de toxinas en los distintos lugares del cuerpo por medio de los vasos sanguíneos, estas pasan al sistema de drenaje del cuerpo que es el **sistema linfático** que por medio de la linfa traslada los desechos justos a donde pueden ser procesados por el cuerpo. (Moreno, 2010)

FUNCIÓN DE LA SANGRE EN EL CUERPO HUMANO.

De acuerdo a los conceptos que hemos manejado anteriormente y al esquema anterior diríamos que la sangre en el cuerpo humano tiene la función de transportar al menos dos cosas principalmente que son el oxígeno y los

distintos nutrientes que el cuerpo requiere y esta función vital puede ser una función con malas consecuencias cuando lo que se transporta es dañino para el cuerpo como una infección a un cáncer.

COMPOSICIÓN DE LA SANGRE.

Si se pudiera ver una gota de sangre al microscopio lo que podríamos ver sería una gran cantidad de partículas redondeadas envueltas en un líquido transparente.

Estas partículas redondeadas son los glóbulos que viajan en un líquido llamado **plasma o suero** (lo que da nombre a nuestra materia) el cual en su constitución es un 80% agua. La imagen recibida sería algo semejante a lo que vemos a continuación.



Figura 3 Imagen de tejido sanguíneo

Fuente: <http://www.monografias.com/trabajos81/serologia-forense/serologia-forense2.shtml>

La composición más elemental de la sangre podría esquematizarse de la siguiente manera tomando considerando una persona promedio normal con 5 litros de sangre en su cuerpo, lo que puede variar de acuerdo a las circunstancias.

Esta proporción habitualmente debe mantenerse constante y cualquier desbalance puede propiciar serias enfermedades.

Lo único que en teoría puede variar es el nivel de oxígeno en la sangre que varía si esta es arterial (rojo u oxigenada) a si esta es venosa (azul con menos oxígeno).

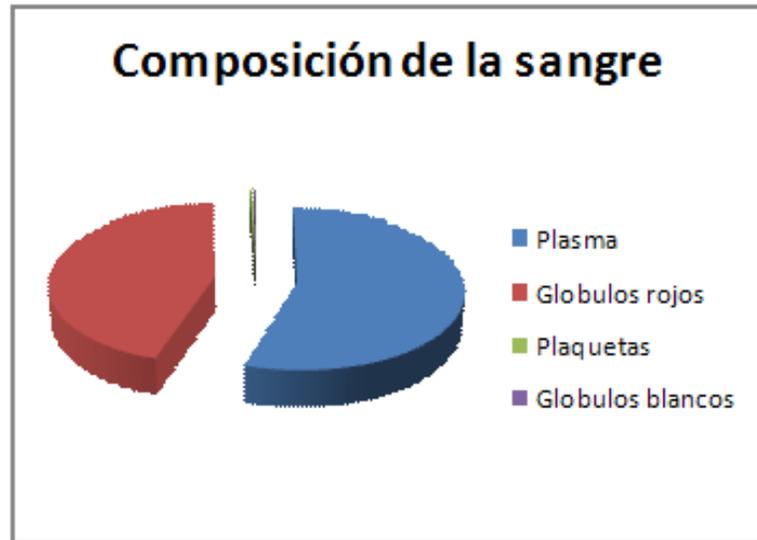


Figura 4 Composición de la sangre.

Fuente: [http:// www.monografias.com/trabajos81/serologia-forense/serologia-forense2.shtml](http://www.monografias.com/trabajos81/serologia-forense/serologia-forense2.shtml)

En el primer caso la sangre contiene una proporción aproximada de 39% de oxígeno mientras que en el segundo caso la proporción disminuye al 20%. Como puede notarse, los dos mayores elementos de la sangre son el plasma y los glóbulos rojos.

Cuando se requiere algún tipo de análisis de estos dos elementos se hace uso de máquinas centrifugadoras que se usan para que con el movimiento circulatorio intenso manden los elementos más pesados de la sangre al fondo de los tubos de ensayo en donde se suele colocar la sangre mientras que los elementos más ligeros mueven hacia la parte superior del tubo de ensayo.

Partiendo de la composición básica en plasma y glóbulos rojos vamos a analizar de la mejor manera posible los componentes de la sangre. (Moreno, 2010)

2.2.2 COMPONENTES DE LA SANGRE.

EL PLASMA

El plasma sanguíneo es la porción líquida de la sangre en la que están inmersos los elementos formes. Es salado y de color amarillento traslúcido y es más denso que el agua. El volumen plasmático total se considera como de 40-50 mL/kg peso.

El plasma sanguíneo es esencialmente una solución acuosa de composición compleja conteniendo 91% agua, y las proteínas el 8% y algunos rastros de otros materiales (hormonas, electrolitos, etc).

Estas proteínas son: fibrógeno, globulinas, albúminas y lipoproteínas. Otras proteínas plasmáticas importantes actúan como transportadores hasta los tejidos de nutrientes esenciales como el cobre, el hierro, otros metales y diversas hormonas.

Los componentes del plasma se forman en el hígado (albúmina y fibrógeno), las glándulas endocrinas (hormonas), y otros en el intestino. Además de vehiculizar las células de la sangre, también lleva los alimentos y las sustancias de desecho recogidas de las células. El suero sanguíneo es la fracción fluida que queda cuando se coagula la sangre y se consumen los factores de la coagulación.

Aun cuando haremos mayores precisiones más adelante concentrándonos en el suero de la sangre diríamos que el 92% de este es suero y el 8% restante es una mezcla de sustancias esenciales para la vida como glucosa, grasas, aminoácidos, sodio, potasio, calcio, proteínas como fibrinógeno, albumina (responsable del mantenimiento de la presión osmótica sanguínea), globulinas (anticuerpos) y hormonas como la insulina y la epinefrina (conocida más comúnmente como adrenalina).

También el plasma contiene sustancias de degradación como **la urea y la creatinina**. (Moreno, 2010)

LOS GLÓBULOS ROJOS

Estos glóbulos también son llamados **eritrocitos** son discos con un diámetro aproximado de 7.5 micras y en la mayoría de los mamíferos carecen de núcleo.

Estos glóbulos superan en una proporción de 700 a 1 a los glóbulos blancos. Les corresponde la tarea de recoger el oxígeno de los pulmones y llevarlo al resto de cuerpo y transportar de regreso el anhídrido carbónico. Su vida dura en promedio tres o cuatro meses después de lo cual se desintegran y son sustituidos por los nuevos que se producen en la médula ósea.

Su eficacia como transportadores de oxígeno se debe a la presencia de su principal proteína que es **la hemoglobina** y que da a la sangre su color rojo y que tiene la propiedad de que se adhiere al oxígeno y no lo suelta hasta que esta llega a su destino lo que es de vital importancia ya que el oxígeno no se disuelve fácilmente en el plasma y de no existir la hemoglobina el oxígeno en la sangre podría durar apenas de 2 a 3 segundos.

Los **glóbulos rojos** son las células sanguíneas que contienen en su interior la hemoglobina. Los glóbulos rojos son los principales portadores de oxígeno a las células y tejidos del cuerpo. Tienen una forma bicóncava para adaptarse a una mayor superficie de intercambio de oxígeno por dióxido de carbono en los tejidos. Además su membrana es flexible lo que permite a los glóbulos rojos atravesar los más estrechos capilares.

La **hemoglobina** es una proteína que contiene hierro lo que le da el color rojo a la sangre, por ello el nombre de glóbulos rojos o Eritrocitos: *eritro* (rojo) + *bitos* (células).

Producción de glóbulos rojos

Los glóbulos rojos se producen en la médula ósea, a partir de células madre que se multiplican a gran velocidad. La producción de glóbulos rojos está regulada por la *eritropoyetina*, que es una hormona producida por el riñón.

Una disminución de la oxigenación de los tejidos aumenta la producción de eritropoyetina, que actúa en la médula ósea estimulando la producción de glóbulos rojos.

Función de los glóbulos rojos

El oxígeno que es necesario para producir energía en los diferentes tejidos entra en el cuerpo humano a través de los pulmones. Atraviesa las membranas de los alvéolos pulmonares y es captado por los glóbulos rojos unido a la hemoglobina.

Luego es transportado por el sistema circulatorio a los tejidos. El oxígeno se difunde a través de la pared de los capilares para llegar a las células. Al mismo tiempo, el CO₂ que producen las células es recogido por la hemoglobina de los glóbulos rojos y es transportado a los pulmones, en donde es expulsado.

Una deficiencia en la cantidad de hemoglobina produce la enfermedad conocida *como anemia*. (Moreno, 2010)

LAS PLAQUETAS

También llamados trombocitos. Las plaquetas son los componentes celulares más pequeños de la sangre. Hay alrededor de unas 250,000 plaquetas por cada centímetro cúbico de sangre y circulan estas en la sangre sin tener actividad alguna hasta que encuentran un vaso sanguíneo momento en el cual entran en acción.

Las plaquetas son pequeñas células que circulan en la sangre; participan en la formación de coágulos sanguíneos y en la reparación de vasos sanguíneos dañados. Cuando un vaso sanguíneo se lesiona, las plaquetas se adhieren al área dañada y se distribuyen a lo largo de la superficie para detener la hemorragia (este proceso se conoce como adhesión).

Al mismo tiempo, pequeños sacos ubicados al interior de las plaquetas y llamados gránulos liberan señales químicas (Este proceso es llamado secreción). Estas sustancias químicas atraen a otras plaquetas al sitio de la lesión y provocan su aglutinamiento para formar lo que se conoce como tapón plaquetario (a este proceso se le llama agregación).

Algunas veces el tapón plaquetario es suficiente para detener la hemorragia. Sin embargo, si la herida fuera grande, otras proteínas llamadas factores de coagulación se reclutan en el sitio de la lesión.

Estos factores de coagulación trabajan en conjunto sobre la superficie de las plaquetas para formar y solidificar el coágulo de sangre. Ante un vaso dañado las plaquetas se acumulan en el orificio cerrándolo liberando entre otras cosas serotoninas que es un vasoconstrictor. Luego, activan a una proteína de la sangre llamada fibrinógeno que es insoluble para convertirlo en fibrina que es insoluble.

La fibrina fabrica una red tridimensional en donde quedan atrapados todos los componentes de la sangre completando así el proceso de **coagulación** que a la inversa puede suceder cuando no es necesario siendo mortal. (Moreno, 2010)

LOS GLOBULOS BLANCOS

Los glóbulos blancos son conocidos como leucocitos y al igual que los eritrocitos se forman en la médula ósea y su función primordial es proteger al organismo del ingreso de gérmenes.

Los glóbulos blancos (conocidos así ya que éste es el color que presentan ante el microscopio, no conteniendo pigmentos) o **leucocitos** consisten en un conjunto de células sanguíneas, los cuales destacan por ser los efectores celulares de la respuesta inmunitaria de nuestro organismo.

Es decir, intervienen y participan de forma muy activa en la defensa del organismo contra agentes infecciosos (antígenos) o sustancias extrañas

Un leucocito es una célula móvil de entre 8 y 20 micrómetros, que se traslada a través de pseudópodos. Presenta núcleo, mitocondrias y otros orgánulos celulares, y puede salir de los vasos sanguíneos gracias a un mecanismo que se conoce como diapédesis que le permite prolongar su contenido citoplasmático.

De acuerdo a la forma del núcleo, los glóbulos blancos pueden dividirse en **linfocitos, monocitos, neutrófilos, basófilos o eosinófilos**.

Según las características tintoriales, por otra parte, puede hablarse de **granulocitos, agranulocitos, neutrófilos o basófilos**.

Es posible registrar alteraciones de tamaño, forma y funcionamiento de los glóbulos blancos. Dichos trastornos se producen por enfermedades hereditarias, infecciones, reacciones contra un medicamento o anemia, por ejemplo. La **leucocitosis** es el aumento de la cantidad de glóbulos blancos, mientras que la disminución recibe el nombre de **leucopenia**.

En el torrente sanguíneo existen cuatro tipos de glóbulos blancos los linfocitos T, los linfocitos B, los monocitos y los granulocitos.

La mecánica de trabajo de los glóbulos blancos podría definirse como sigue: Los monocitos y linfocitos no contienen gránulos, pero cuando los granulocitos

detectan un germen invasor, los linfocitos y monocitos lo encuentran y se lo comen.

Luego los monocitos examinan las partes de proteína que formaban el germen para analizar de qué estaba formado.

Después, los monocitos llaman a los linfocitos T para que reconozcan como era el germen, y éstos a su vez convocan a los linfocitos B, los cuales crean una arma especial llamada anticuerpo para atacar a esos gérmenes. Los linfocitos B crean muchas copias de estas armas o anticuerpos.

Cuando los anticuerpos encuentran su objetivo lo atacan, hieren y matan, para que luego los granulocitos y monocitos terminen con él. En una sola gota de sangre hay entre 7.000 y 25.000 glóbulos blancos. (Moreno, 2010)

FACTORES DE COAGULACIÓN SANGUÍNEA

La habilidad del cuerpo para controlar el flujo de sangre luego de una lesión vascular es un componente indispensable de la supervivencia.

El proceso de la coagulación sanguínea y luego la disolución del coágulo, seguido por una reparación del tejido lesionado, se denomina hemostasis.

La hemostasis se conforma de 4 eventos principales que ocurren en un orden determinado luego de la pérdida de la integridad vascular:

- 1.** La fase inicial del proceso es la constricción vascular. Esto limita el flujo sanguíneo al área de la lesión.
- 2.** A continuación, se activan las plaquetas por la trombina y se agregan en el sitio de la lesión, formando un tampón temporario y flojo conformado de plaquetas.

La proteína fibrinógeno es principalmente responsable de estimular la agregación plaquetaria.



Figura 5 Coagulación sanguínea.
 Fuente: <http://www.wfh.org/es/page.aspx?pid=1314>

Las plaquetas se agregan al unirse al colágeno que se expone debido a la ruptura del recubrimiento epitelial de los vasos.

Luego de su activación, las plaquetas liberan ADP un nucleótido y un eicosanoide, TXA₂ (los cuales activan más plaquetas), serotonina, fosfolípidos, lipoproteínas y otras proteínas importantes de la cascada de coagulación.

Además de su secreción, las plaquetas activadas cambian su conformación para acomodar la formación del coágulo.

3. Para asegurar la estabilidad del tampón flojo inicial, se forma una malla de fibrina (también llamada un **coágulo**) que recubre al tampón.

Si el tampón únicamente contiene plaquetas se denomina un **trombo blanco**; si glóbulos rojos están presentes se lo denomina un **trombo rojo**.

4. Finalmente, el coágulo debe ser disuelto para que el flujo sanguíneo normal pueda resumir luego de que se repare el tejido.

La disolución del coágulo ocurre a través de la acción de la **plasmina**.

Dos vías llevan a la formación de un coágulo de fibrina: la vía intrínseca y la vía extrínseca.

Aunque las dos son iniciadas por mecanismos diferentes, las dos convergen en una vía común que lleva a la formación del coágulo.

La formación del trombo rojo o coágulo en respuesta a una anomalía en un vaso pero en la ausencia de una lesión del tejido es el resultado de la vía intrínseca.

La vía intrínseca tiene poca significancia bajo condiciones fisiológicas normales.

El suceso más importante clínicamente es la activación de la vía intrínseca por el contacto de la pared del vaso con las partículas de lipoproteína, VLDLs y quilomicrones.

Este proceso claramente demuestra el papel de la hiperlipidemia en la generación de la aterosclerosis.

La vía intrínseca también puede ser activada por el contacto de la pared del vaso con bacterias.

La formación del coágulo de fibrina en respuesta a una lesión del tejido es el evento clínico más importante de la hemostasis bajo condiciones normales de respuesta.

Este proceso es el resultado de la activación de la vía extrínseca.

Ambas vías son complejas e incluyen varias proteínas diferentes denominadas factores de la coagulación. (King, 2006)

LA CASCADA DE COAGULACIÓN

El proceso de coagulación implica toda una serie de reacciones enzimáticas encadenadas de tal forma que actúan como un alud o avalancha, amplificándose en cada paso: un par de moléculas iniciadoras activan un número algo mayor de otras moléculas, las que a su vez activan un número aún mayor de otras moléculas, etc.

En estas reacciones un zimógeno (precursor enzimático inactivo) y su cofactor glicoproteico son activados.

Esto se da para convertirse en componentes activos que luego catalizan la siguiente reacción en la cascada, una enzima activa "recorta" una porción de la siguiente proteína inactiva de la cascada, activándola; finalizando en la formación de fibrina entrecruzada.

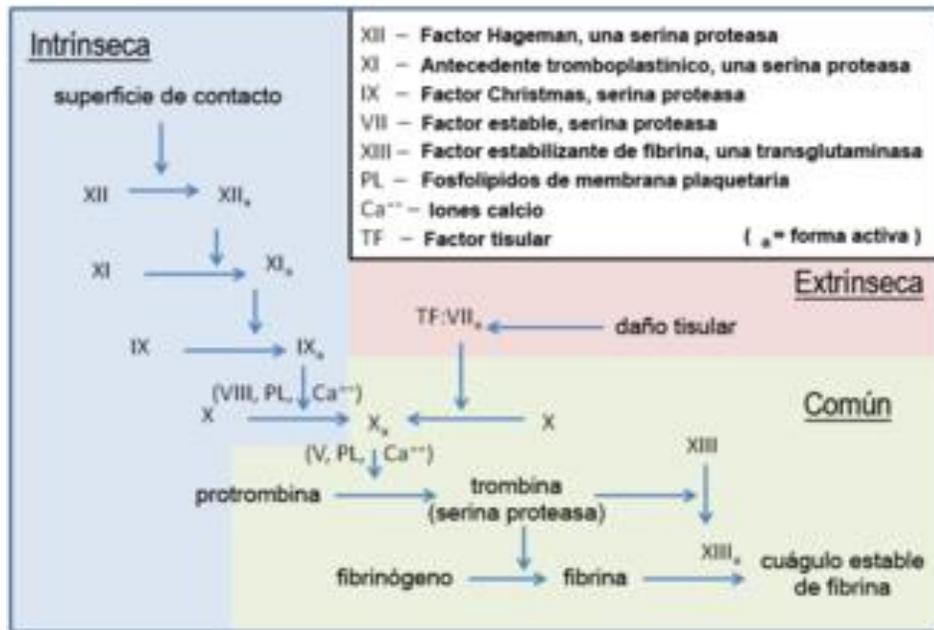


Figura 6 Vías de la Cascada de Coagulación Clásica.
Fuente: <https://es.wikipedia.org/wiki/Coagulaci%C3%B3n>

En esta serie de reacciones intervienen más de 12 proteínas, iones de Ca²⁺ y algunos fosfolípidos de membranas celulares.

A cada uno de estos compuestos participantes en la cascada de coagulación se les denomina "Factor" y comúnmente se lo designa por un número romano elegido de acuerdo al orden en que fueron descubiertos y con una a minúscula para indicar la forma activa.

Siete de los factores de coagulación (preacelerina: factor V, protrombina: Factor II, proconvertina: factor VII, factor antihemofílico beta: IX, factor Stuart:

X, tromboplastina plasmática: XI y factor Hageman: XII) son zimógenos sintetizados en el hígado.

Esto significa que los zimógenos bioquímicamente son proenzimas que normalmente, cuando se encuentran circulando en el plasma sanguíneo, no tienen una actividad catalítica importante.

Pero que pueden convertirse en enzimas activas cuando se hidrolizan determinadas uniones peptídicas de sus moléculas.

La mayoría de los factores de coagulación son serina proteasas que actúan recortando a las proenzimas que se encuentran por debajo de la cascada, activándolas.

Sin embargo, hay algunas excepciones. Por ejemplo los FVIII y FV son glicoproteínas, y el factor XIII es una transglutaminasa.

Algunos factores de coagulación requieren vitamina K durante su síntesis en el hígado para convertirse en biológicamente activos. Entre ellos los factores II (protrombina), VII (proconvertina), IX (antihemofílico beta) y X (Stuart).

ETAPAS DE LA CASCADA DE COAGULACIÓN

La cascada de coagulación se divide para su estudio, clásicamente en tres vías: La vía de activación por contacto (también conocida como vía intrínseca), la vía del factor tisular (también conocida como vía extrínseca) y la vía común.

Las vías de activación por contacto y del factor tisular son las vías de iniciación de la cascada, mientras que la vía común es hacia donde confluyen las otras dos desembocando en la conversión de fibrinógeno en fibrina.

Tanto la vía intrínseca como la vía extrínseca desembocan en la conversión del factor X en X_a (la letra "a" como subíndice "a" significa "activado"), punto en el que se inicia la vía común.

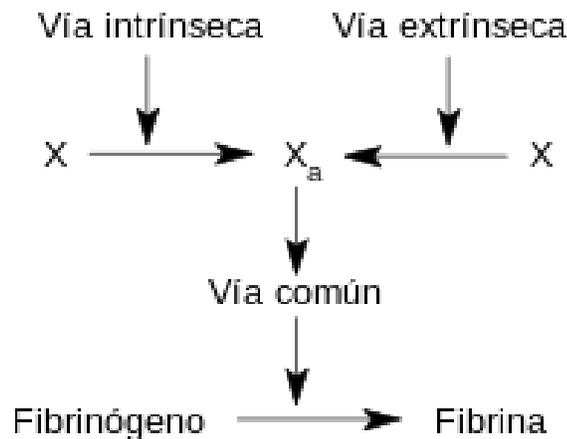


Figura 7 Esquema de las Vías de la Cascada de Coagulación.
 Fuente: <https://es.wikipedia.org/wiki/Coagulaci%C3%B3n>

Esta división es un tanto arbitraria y tiene más que ver con las deficiencias de las técnicas que en su momento se utilizaron para desentrañar los mecanismos implicados.

Estos mecanismos son los que ocurren realmente en una lesión vascular; ya que en este último caso se establecen varias interrelaciones entre las vías de iniciación. Sobre todo en lo que tiene que ver a la cascada de coagulación y los mecanismos en una lesión vascular.

Antiguamente se pensaba que las dos vías de la cascada de coagulación tenían igual importancia. Pero ahora se sabe que la vía primaria para la iniciación de la coagulación de la sangre es la vía del factor tisular (extrínseca), siendo esta vía hoy en día la más importante en lo que tiene que ver a la cascada de coagulación y su acción en una lesión vascular. (King, 2006)

2.2.3 LA SANGRE Y EL LUGAR DEL HECHO.

SANGRE EVIDENCIA BIOLÓGICA.

La sangre, con todas las propiedades que hemos visto constituye la mayor evidencia biológica en una escena de crimen.

Lo que nos permite reconstruir prácticamente un hecho violento aportándonos información detallada de cosas muy específicas. Una lista de ellas ya se ha detallado en los primeros temas de este estudio.

Técnicamente se puede decir que solo se puede producir una "mancha" cuando la sangre cae en una superficie absorbente donde la sangre queda impregnada.

Cuando la sangre cae en una superficie no absorbente no se habla de una mancha sino de una "costra". Y aunque se suelen hacer generalizaciones al respecto es importante tener presente este concepto que nos será de utilidad al momento del análisis de la muestra.

Además de ellos debemos entender que la forma y la tonalidad de una mancha dependen del medio de soporte donde esta se encuentre. Debemos entender por medio de soporte el lugar donde una mancha queda depositada. (Moreno, 2010)

QUE OBSERVAR DE LA SANGRE.

Es muy importante en una escena del crimen lo observable en manchas de sangre y podríamos decir que pueden ser resumidas en los siguientes cinco puntos.

Los cuales son los aspectos más importantes que se deben tomarse en cuenta a la hora de valorar manchas de sangre en una escena de crimen.

- La ubicación de las manchas de sangre
- Las formas de las manchas
- Su dirección
- Su tamaño
- Su superficie de impacto

Para poder determinar lo anterior, es recomendable además de cualquier anotación por escrito que se pueda hacer, tomar una fotografía de cada mancha de sangre utilizando un referente métrico que permita ubicar a simple vista el tamaño de una mancha.



Figura 8 Mácula de sangre en soporte sólido
Fuente: [http:// www.monografias.com/trabajos81/serologia-forense/serologia-forense2.shtml](http://www.monografias.com/trabajos81/serologia-forense/serologia-forense2.shtml)

Todo esto ya construir una primera hipótesis sobre un hecho criminal el cual se corroborará o modificará en base a la recolección del resto de la evidencia.

A continuación se muestra la imagen de una prenda de mezclilla con una serie de manchas de sangre con un referente métrico para guardar las proporciones. (Moreno, 2010)

CLASIFICACIÓN DE LAS MANCHAS DE SANGRE.

Existen varias clasificaciones para las manchas de sangre y su uso depende del espacio de investigación donde nos encontremos y del tipo de mancha que estemos analizando. A efectos de tener la mayor información posible, anotaremos aquí las clasificaciones más importantes.

Clasificación de Simonin.

De acuerdo a esta clasificación las manchas de sangre pueden dividirse en **manchas de proyección** que son las manchas que tienen forma de gota o de salpicadura como se muestra en la siguiente imagen:



Figura 9 Mancha de proyección

Fuente: [http:// www.monografias.com/trabajos81/serologia-forense/serologia-forense2.shtml](http://www.monografias.com/trabajos81/serologia-forense/serologia-forense2.shtml)

Además de estas existen **las manchas de contacto** que son manchas que contienen huellas de manos, dedos, pies, glúteos u otras partes del cuerpo que previo a su fijación ya estaban cubiertas de sangre. Continuamos con una imagen de ejemplo:



Figura 10 Mancha de contacto

Fuente: [http:// www.monografias.com/trabajos81/serologia-forense/serologia-forense2.shtml](http://www.monografias.com/trabajos81/serologia-forense/serologia-forense2.shtml)

También existen las llamadas **manchas de escurrimiento** que tienen forma de regueros o charcos y usualmente quedan impregnadas en el lugar donde el cuerpo ha perdido la mayor parte de su volumen sanguíneo. Una imagen de ejemplo:



Figura 11 Mancha de escurrimiento

Fuente: [http:// www.monografias.com/trabajos81/serologia-forense/serologia-forense2.shtml](http://www.monografias.com/trabajos81/serologia-forense/serologia-forense2.shtml)

Finalmente en lo que llamaríamos las categorías principales de esta clasificación están las **manchas de impregnación** que son las manchas de sangre que de los cuerpos de las víctimas pasan a plasmarse en objetos circundantes como muebles, alfombras, ropa, colchones, tierra, etc. Un ejemplo de estas manchas se muestra en la siguiente imagen:



Figura 12 Manchas de impregnación

Fuente: [http:// www.monografias.com/trabajos81/serologia-forense/serologia-forense2.shtml](http://www.monografias.com/trabajos81/serologia-forense/serologia-forense2.shtml)

Con una última división, Simonin habla de las **manchas de limpieza** refiriéndose con ello a manchas de sangre que se encuentran en objetos que el victimario utilizó para quitar los rastros de sangre de su cuerpo, vestimenta o armas utilizadas. Casi siempre estas manchas prevalecen en paños o trapos que se utilizan para limpieza.

Clasificación de Herbertson

Para este investigador, primero se encuentran las:

Manchas de sangre clase 1. Estas son las manchas cuyo diámetro oscila entre los 1.5 y los 2.2 cms. (15 a 22 mm.).

Este tipo de manchas indican que la velocidad de un cuerpo al golpear con su soporte fue lenta lo que casi siempre por causa de la gravedad y cuando dicho cuerpo golpea en superficies lisas que no son capaces de absorber impactos.

Manchas de sangre clase 2. Después de estas manchas continúan las de clase 2 que son las manchas cuyo diámetro oscila entre los 3 y los 10 mm.

Estas manchas implican que, el impacto que la produjo lo hizo a una velocidad moderada habiéndose aplicado en dicho impacto una fuerza mayor a la fuerza de la gravedad.

Manchas de sangre clase 3. Después de estas continúan las de clase 3 que son manchas de menos de 1 mm y que son consecuencia de impactos con armas de fuego e incluso con elementos contundentes.

Manchas de sangre clase 4. Después de estas aparecen las manchas de clase 4 que son manchas de charco o transparencia y que son el resultado de cualquier procedimiento de limpieza hecho en la escena del crimen. (Moreno, 2010)

EL LUGAR DEL HECHO.



Figura 13 Lugar de los Hechos

Fuente: <https://socifobc.org/2010/04/19/fundamental-la-adecuada-preservacion-y-conservacion-del-lugar-de-los-hechos-socifo/>

El lugar de los hechos se entiende como el sitio donde se ha cometido un hecho que puede ser delito.

Toda investigación criminal tiene su punto de partida casi siempre en el lugar de los hechos, y muchos criminalistas ya han expresado:

“Que cuando no se recogen y estudian los indicios en el escenario del crimen, toda investigación resulta más difícil”.

Por tal motivo, es imperativo proteger adecuadamente en primer término “el lugar de los hechos” o como lo denominan los especialistas “el sitio de suceso”.

Para obtener resultados fructíferos desde el inicio de las investigaciones, conviene considerar y aplicar la máxima jurídica del Dr. Hanns Gross.

“Si la inspección ha de ser útil, es imprescindible que todos los objetos importantes o que no figuren en el lugar del crimen, permanezcan intactos, sin que por ninguna causa se les cambie de posición.

Independientemente de la categoría que se asuma, la búsqueda de las manchas debe hacerse con sumo cuidado sobre el cuerpo de la víctima y el cuerpo del victimario si este se ha capturado.

Sobre el piso del evento lo que incluso debe incluir uniones de mosaicos y pisos, sobre paredes y muebles y sobre el arma incluida en el evento si esta está disponible.

Se deben registrar las manchas desde diferentes ángulos de visión y distintas intensidades de iluminación, esto debido a que muchas manchas de sangre no son vistas de manera normal y la aplicación de luminosidad puede revelarlas.

Además de ello no se debe olvidar que en cualquier hecho criminal existe lo que llamaremos escenas del crimen y según Turvey (2008) existen 3 escenas:

Escena primaria:

Es donde existe mayor contacto entre el victimario y la víctima, donde se invierte más tiempo y donde se realizan el mayor número de lesiones a la víctima.

Dadas a estas características es una escena trascendental respecto de indicios forenses y para el perfil criminal. Es factible, como hemos expresado, que además sea el lugar donde se encuentra el cadáver.

Escena secundaria:

Es el lugar donde se determina interacción entre agresor y víctima pero en menor cantidad respecto a la primaria.

Si es la escena donde se abandona el cadáver, es a la vez escena secundaria y de abandono del cuerpo. Dentro de un mismo crimen puede haber varias escenas accesorias.

Escena intermedia:

Es la que se ubica entre la escena primaria y la escena de abandono del cuerpo.

Es un tipo de escena secundaria que generalmente sirve para trasladar el cadáver desde la escena primaria hasta la escena donde se va a dejar el cuerpo.

Es importante analizar el intercambio que se puede producir desde la escena primaria hasta esta escena y entre ella y la escena de abandono del cuerpo.

Cada una de estas escenas criminales debe de examinarse con la misma meticulosidad que la escena principal. (THE KARMA POLICE, 2011)

2.2.4 ESCENA EL CRIMEN

CONCEPTO

"Es el lugar donde se presume se ha producido un delito; y por ende, debe ser objeto de una investigación policial; siendo su importancia evidente por la gran cantidad de indicios o evidencias que se puede recoger en ella, las mismas que serán determinantes en el desarrollo de la investigación criminal"

No existe norma que pueda definir con exactitud las dimensiones de la Escena del Crimen; pero por lo general, es considerada solamente el punto o lugar donde se ha llevado a cabo el evento delictivo, sin embargo, el término es más amplio y debe incluir también las zonas circundantes por la que haya pasado el posible autor o la víctima al dirigirse al lugar o retirarse del mismo.

Pues en dichas zonas pueden haberse producido descuidos por parte del agente delictivo y haber dejado huellas de importancia criminalística que prueben más adelante su culpabilidad, consiguientemente, la Escena del Crimen debe comprender el lugar donde se ha cometido el delito y la zona circundante a ésta.

Dicho de otro modo, La Escena del Crimen es la fuente de información del Perito y su pesquisa; consecuentemente, es el lugar donde se ha producido un hecho, *in prima face*, delictuoso, y que por ende, amerita una adecuada investigación, teniendo en cuenta principios fundamentales de la Criminalística.



Figura 14 Escena del Crimen

Fuente: <http://revistamundoforense.com/fase-primaria-secundaria-y-terciaria-de-un-hecho/>

CRIMINALISTICA EN LA ESCENA DEL CRIMEN

"Es el conjunto de diligencias, de carácter técnico-científico, inmediatas al conocimiento de un hecho o presumiblemente delictivo que realiza el Perito de Criminalística en la Escena del Crimen, para comprobar o descartar su veracidad y al mismo tiempo para recoger los indicios y/o evidencias que permitan identificar al presunto autor".

La Inspección Criminalística se inicia con el conocimiento del hecho, continuado con el aislamiento y protección de la Escena del Crimen.

La búsqueda, ubicación, recojo y traslado de toda muestra de interés criminalístico al Laboratorio para su examen y análisis, mediante la Cadena de Custodia. Todo esto según la naturaleza del hecho concreto.

1. Elementos Necesarios

a. Personal

Aunque en nuestro medio no exista norma que determine el número de personas que deben ingresar a la Escena del Crimen, es recomendable que sea el menor número posible, dándose las precauciones del caso.

En tal sentido, se deberá permitir tan sólo el ingreso de Peritos, del representante del Ministerio Público y fotógrafo policial; debiendo permanecer fuera del lugar las demás autoridades, las mismas que ingresaran cuando los técnicos hayan concluido su cometido.

b. Equipo

Para que La Inspección sea efectuada con eficiencia, eficacia, seguridad y rapidez es necesario emplear el instrumento correspondiente que permita mantener las evidencias en el mismo escenario, seleccionarlos y recogerlos, así como su preservación y embalaje para su remisión a la Dirección de Criminalística (División de Laboratorio Criminalístico o División de Investigación en la Escena del Crimen), dependiendo de los indicios y/o evidencias.

Para llevar a cabo esta diligencia el Perito, utilizará equipos apropiados para el recojo de muestras, según la naturaleza de los mismos, sean estos restos biológicos, balísticos, toxicológicos, papilares, huellas de pisadas etc. (HUAMAN, 2013)

FASES DE INVESTIGACION EN LA ESCENA DEL CRIMEN

Para realizar una investigación científica en cualquier campo de la actividad o conocimiento humano, se deben seguir algunas fases que precisamente la orienten, para asegurar buenos resultados.

La investigación en la Escena del Crimen no es la excepción, por ende se han establecido fases o pasos secuenciales que coadyuven al logro de los objetivos trazados por parte de los Peritos de Criminalística. En términos generales, se plantean las siguientes fases:

1. A CARGO DEL PERSONAL POLICIAL

a. Conocimiento del Hecho

Es la información, versión, notificación, exposición o simple referencia o que llega por cualquier medio o circunstancia a conocimiento de la autoridad policial, respecto a la comisión u omisión de un hecho delictuoso o infracción punible o supuestamente delictual para su posterior esclarecimiento.

El ejemplo más común es La Denuncia, la misma que puede ser interpuesta ante una Comisaría, un puesto policial o incluso directamente ante una Fiscalía. Otro ejemplo que se puede traer a colación es el de la "Ocurrencia Policial", que constituye un documento oficial donde el personal de la policía registra todos aquellos sucesos. Así como también los acontecimientos, ocasiones o encuentros fortuitos o inesperados que, por su naturaleza no pueden ser registrados a través de denuncia.

Pero a través de las cuales la autoridad toma conocimiento de la comisión de un acto presumiblemente delictuoso de competencia policial y perseguirle de oficio.

b. Comprobación o Verificación del Hecho.

Consiste en el inmediato traslado del personal policial que toma conocimiento del hecho a fin de poder verificar "In Situ" y de manera objetiva los hechos denunciados o puestos en conocimiento.

En tal sentido, se debe cumplir con lo que la palabra verificar significa, es decir, que si vemos el cuerpo de una persona pendiendo de una soga o con signos evidentes de muerte, bajo cualquiera de sus modalidades, es de suponer que ya es cadáver.

No siendo necesario ingresar al lugar, tocarle el pulso, buscarle documentos de identidad u otras acciones innecesarias que conlleven a la alteración y destrucción de los indicios y/o evidencia.

Debiéndose guardar la llegada del personal especializado en inspección criminalística y el representante del Ministerio Público.

En caso de que se presuma que la persona presente signos de vida, primero se deberá prestarle el auxilio debido, tratando de no alterar en lo posible las evidencias que éste y el medio pudieran presentar, recordando siempre el proteger la escena, es decir, mantener su intangibilidad.

c. Aislamiento y Protección de la Escena del Crimen.

Es común que vecinos o personas que transitaran por el lugar acudan a satisfacer su curiosidad y no parar hasta ver el cadáver, incluida la prensa, quienes invaden la escena para obtener primicias del hecho, mientras que en otros casos son los familiares de la víctima, quienes penetran físicamente en el lugar de los hechos.

Donde no solo entorpecen la labor policial, sino que resulta mucho más grave, cuando cogen, manipulan, cambian de lugar o se llevan los indicios o evidencias, dejando sus propias huellas, con lo que perturban el trabajo de la escena.

Para evitar estos inconvenientes, se debe colocar barreras, sogas, cintas de seguridad con avisos o letreros, con anotaciones grandes y legibles que indiquen "**PROHIBIDO EL INGRESO**".

Esto demarcará la Escena del Crimen y permitirá advertir al público o personas hasta donde podrán llegar.

Asimismo, se protegerá las evidencias o indicios, sobre todo aquellas que pueden ser destruidas por pisadas, por agentes atmosféricos, como lluvia, viento, sol y otros que pudieran destruir o alterar los indicios o evidencias.

d. Ocupación de la Escena del Delito

Consiste en la toma de posesión temporal que la policía u otras autoridades pertinentes hacen de la Escena del Crimen.

Así como de los alrededores donde se puedan ubicar indicios o evidencias para practicar las diligencias técnico-científicas comprobatorias, tendientes al esclarecimiento del hecho investigado.

e. Comunicación a las Autoridades.

Inmediatamente a la comprobación o verificación del hecho y de modo simultáneo a la protección o aislamiento de la escena del crimen, se deberá comunicar por los medios más rápidos a:

- Ministerio Público
- Los Peritos de Criminalística
- Unidad Policial Especializada que se encargara de la investigación (DIVINCRI, DIVISE, DIVANDRO, etc.)

La comunicación deberá ser ejecutada por el primer personal policial interviniente que verifica el hecho, no debiéndose esperar más de lo justamente necesario: "El tiempo que pasa, es la verdad que huye".

De igual modo, desde el punto de vista técnico, una de las prioridades es comunicar a la Unidad de Criminalística, por cuanto es la parte técnico –

científica que ingresará a la Escena del Crimen, la misma que no puede estar supeditada a una comunicación extemporánea.

Hasta este punto es vital la participación del personal policial que inicialmente ha tomado conocimiento del hecho delictuoso, ya que en las demás fases, para una adecuada investigación de la Escena del Crimen, dependerá de la presencia de los Peritos en Criminalística. (HUAMAN, 2013)

2. A CARGO DE LOS PERITOS DE CRIMINALISTICA

a. Llegada a la Escena del Crimen

- **Información Previa**

Al llegar a la escena del crimen, y antes de ingresar en ésta propiamente, en primer lugar, quien conduzca el equipo de Peritos de criminalística, debe conseguir información acerca de lo sucedido de las personas que descubrieron el hecho, para evitar tergiversaciones al realizar el trabajo de campo. Luego de procesada dicha información recién se deberá intervenir propiamente la escena del crimen.

- **Coordinación con el Ministerio Público**

En su calidad de titular de la acción penal, el Fiscal conduce la investigación criminal, y por ende, se deberá coordinar con él todas las acciones conducentes al procesamiento de la escena del crimen: quiénes intervienen, cómo intervienen, y en qué momento se retiran; todo ello con la finalidad de revestir con la legalidad procesal correspondiente esta diligencia.

- **Registro Cronológico de los Hechos**

Para que el Informe Pericial sea coherente, es necesario que los hechos descubiertos en la investigación criminal sean explicados en orden

cronológico, de manera que se pueda comprender plenamente el "*iter criminis*" usado por el autor del hecho punible. En este sentido se recomienda que los peritos registren preliminarmente durante el desarrollo de su trabajo, los siguientes momentos:

- Hora de descubrimiento del hecho
- Hora de llegada del equipo investigador
- Hora de inicio de la inspección
- Hora de término de la inspección.

Asimismo, se recomienda registrar aspectos como la situación atmosférica (sol, lluvia, viento, etc.) que se observó en cada una de las horas antes señaladas; las acciones y modificaciones que pudieron haber realizado las personas que descubrieron el hecho (tal vez retiraron algún objeto por seguridad). Y todo aquella situación extraña (puerta forzada, ventana rota) o elemento ajeno que no guarde relación directa con el lugar de los hechos (casquillos de bala, el seguro de una granada, etc.)

b. Planeamiento de La Inspección

- **Selección de Los Peritos**

Los Peritos que intervienen en la escena del crimen, así como el momento y el orden de sus intervenciones, son determinadas en base a criterios técnicos, conforme sea la naturaleza del delito investigado; siendo los más indicados para tomar dicha decisión el Fiscal y el Jefe de los Peritos.

Todo esto con dos propósitos: "no inundar" la escena del crimen, y dar a cada profesional el espacio y tranquilidad necesarias para la realización de su trabajo.

Así por ejemplo, en la actualidad se estila que el primer Perito en ingresar a la escena del crimen sea el experto en psicología forense.

Quien a partir de los elementos que componen la escena del crimen, determina el perfil psicológico del criminal, e incluso puede aportar rasgos físicos del mismo.

- **Medidas de Seguridad**

En primer lugar, los Peritos deberán tener en cuenta en todo momento y como norma general los principios básicos de bio-seguridad, o sea, usarán los trajes necesarios para la protección de su integridad física (guantes, cascos, mascarillas, etc.).

Y del mismo modo, deberán asegurar las estructuras propias de la escena del crimen, con acordonamientos y sobretodo evitando la exposición a terceras personas que no tengan nada que ver con la investigación o que de uno u otro modo pueden alterar la escena, pues estas podrían estar debilitadas como consecuencia de la comisión del delito mismo (por ejemplo, un incendio provocado, un derrumbe en una mina, etc.)

- **Determinación del Instrumental**

Los Peritos deberán escoger las herramientas idóneas con las que procesaran la escena del crimen, así como las que utilizarán para el recojo y almacenamiento de los indicios y/o evidencias sin que estos se vean contaminados. De lo que se infiere que para este momento, la información previa de la que hablamos líneas arriba, ya se les fue comunicada, de tal modo que los Peritos acudan a la escena del crimen provistos del instrumental idóneo para cada caso.

- **Priorización de las Evidencias o Indicios**

Son los Peritos intervinientes quienes deciden el grado de importancia de cada evidencia o indicio encontrado; partiendo de lo genérico a lo específico, y del

exterior hacia el interior de la Escena del Crimen; de tal modo que sean correctamente numerados, perennizados y recogidos de su lugar primigenio.

- **Método de Registro**

Al buscar, registrar y proteger los indicios o evidencias será necesario distinguir los elementos de convicción de aquellos que no se relacionan con la comisión del delito.

Es así como debemos identificar cuáles constituyen evidencia y cuáles constituirán prueba; por lo tanto, registrar la escena del crimen "de cabo a rabo" será inexorable. En este sentido, se recomienda elegir un método de registro en base a si la Escena del Crimen se encuentra en campo abierto o en campo cerrado. Para el primer caso tenemos:

- Método del peine (lineal, de afuera hacia adentro)
- Método de franjas (doble peine, de norte a sur y de este a oeste)

Y para el caso de campo cerrado, tenemos:

- Método de cuadros (dividir la escena en dos o más cuadros)
- Método del reloj (espiral, de afuera hacia adentro) (HUAMAN, 2013)

c. Ingreso a la Escena del Crimen

- **Aplicación del Método Seleccionado**

Los Peritos harán su ingreso a la escena del crimen propiamente, en el orden previamente establecido y de acuerdo al método escogido. Así, deberán seguir los siguientes pasos para cada método en concreto:

- **Método del Peine**

Los Peritos ingresan en fila por uno de los extremos de la escena del crimen, luego avanzan paralelamente hasta el extremo opuesto; y finalmente giran,

siempre en fila, hacia uno de los lados y regresan del mismo modo que ingresaron.

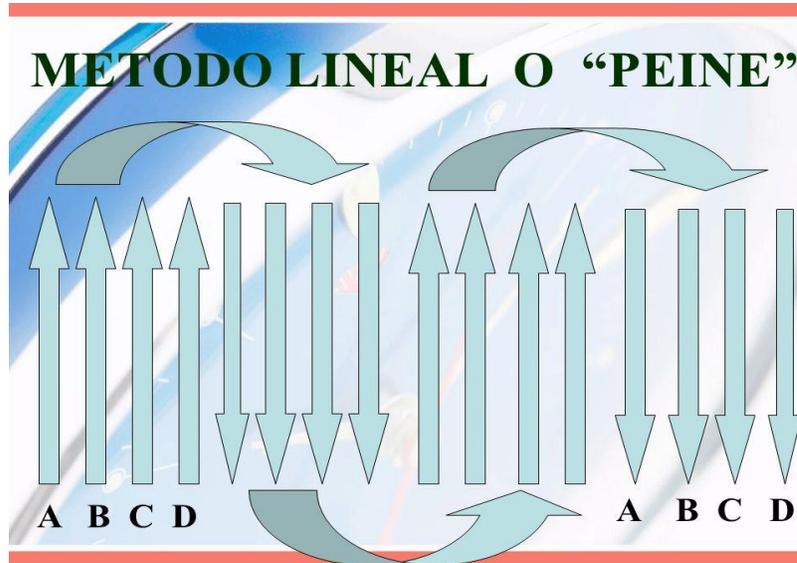


Figura 15 Método en peine en una escena del crimen
Fuente: <http://slideplayer.es/slide/30620/>

- **Método de Franjas**

Se recomienda para escenas del crimen abiertas y de gran extensión. Consiste en realizar un doble método del peine; de sur a norte y de este a oeste, al unísono o por separado.

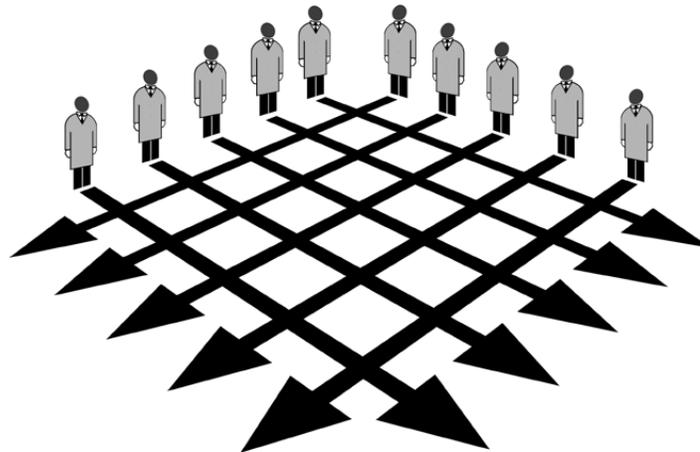


Figura 16 Método en Franjas en una escena del crimen
Fuente: <http://docplayer.es/5563708-Universidad-policial-mcal-antonio-jose-de-sucre-instituto-de-investigaciones-tecnico-cientificas.html>

- **Método de Cuadros**

Consiste en dividir la escena del crimen en dos o más cuadros marcados con tiza, asignándole un número o una letra a cada uno; y donde un Perito podrá trabajar independientemente de los otros.

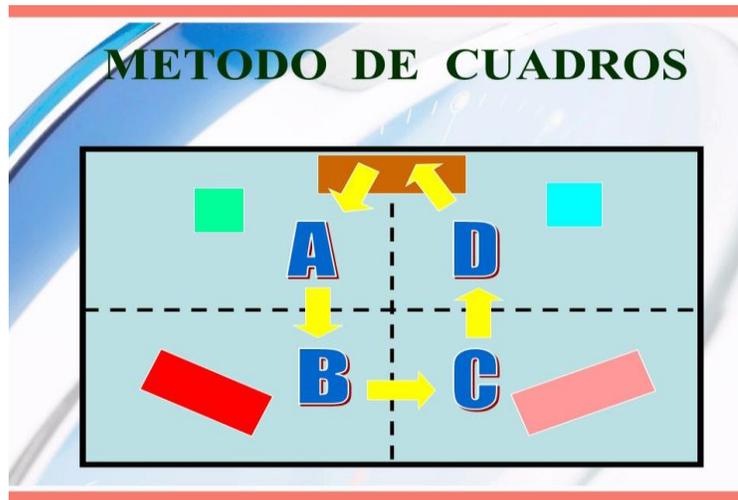


Figura 17 Método en Cuadros en una escena del crimen
Fuente: <http://slideplayer.es/slide/30620/>

- **Método en espiral**

En este método los Peritos a cargo de la investigación deberán ingresar a la escena del crimen en investigación haciendo círculo del exterior hacia el interior de la escena.



Figura 18 Método en espiral en una escena del crimen
Fuente: <http://slideplayer.es/slide/30620/>

Pueden ingresar de a dos, pero en sentidos opuestos, de tal modo que cuando lleguen al centro, ambos regresen al punto de partida por el camino que ingresó su colega, a efectos de no dejar ningún rincón de la escena del crimen sin registrar.

- **Registro de Indicios y Evidencias**

En principio, la búsqueda de los indicios y/o evidencias se realiza de lo genérico a lo específico, sean en campo abierto o en campo cerrado, del exterior hacia el interior; e interpretándose las mismas con el apoyo de otro tipo de información, a estas alturas ya recolectadas, como los testimonios.

Los indicios y evidencias se clasifican en:

- **Fijas**

Todas aquellas que por su naturaleza no pueden ser movidas de la escena del crimen, por lo que su procesamiento deberá realizarse con el apoyo de capturas fotográficas, fílmicas, o moldeados in situ.

Por ejemplo, huellas de pisadas, de neumáticos, dactilares, etc.



Figura 19 Indicios y evidencias fijas

Fuente: <http://www.monografias.com/trabajos95/psicologiaforense/psicologiaforense.shtml>

- **Móviles**

Todas aquellas que pueden ser trasladadas a los laboratorios de peritaje. Por ejemplo, fibras, cabellos, armas, cadáveres, etc.



Figura 20: Indicios y evidencias móviles

Fuente: <http://www.monografias.com/trabajos95/psicologiaforense/psicologiaforense.shtml>

d. Perennización de la Escena del Crimen

Por regla general, el registro fotográfico de la Escena del Crimen debe ser la primera acción pericial realizada. Empezándose por tomas fotográficas panorámicas del lugar de los hechos (es decir, la escena del crimen más un sector prudente del área geográfica que lo rodea).

Luego se tendrá que ir avanzando (al mismo tiempo que se enumeran las evidencias o indicios que aparecen) tomando fotografías hasta capturar el núcleo de la escena del crimen; siempre desde varios ángulos distintos.

La finalidad de la perennización es fijar para la posteridad las condiciones generales y específicas en que se encontró, por separado.

Cada elemento constituyente de la escena del crimen y la composición misma de todos los elementos juntos; para poder conseguir una análisis contextualizado de las evidencias y/o indicios.



Figura 21: Perennización de la escena del crimen
Fuente: <https://sites.google.com/site/medicinalegalycriminalistica09/ter/cri>

e. Recojo de las Evidencias e Indicios

- **Técnica de Recojo**

En toda escena del crimen encontraremos evidencias o indicios fijos y móviles; las cuales deben ser llevadas al Laboratorio Pericial, en su totalidad o una parte de ellas. En el caso del traslado de las evidencias o indicios fijos, se utilizarán técnicas de moldeado "in situ" para trasladar una "copia" de las mismas al Laboratorio; y en el caso de las evidencias o indicios móviles podrán ser llevados al laboratorio, íntegramente o la fracción necesaria, conforme sea lo más apropiado.

En todos los casos, a dichos objetos trasladados se les denominará "muestras". Así por ejemplo, en el caso de huellas de pisadas halladas en suelo concreto, se puede tomar la muestra con una cinta adhesiva o con tomas fotográficas con luz rasante.

En el caso de botellas de vidrio destapadas, se las sostiene introduciendo un dedo por su boquilla y con otro dedo se sostiene de su base.

Las armas de fuego se agarran sosteniendo el aro protector del gatillo. Los papeles se toman con pinzas y sin doblarlos.

Las manchas en vestidos y prendas se dejan secar y se envían al laboratorio pericial.

Las armas blancas se toman por el filo o por sus extremos, pero nunca por su superficie lisa. Los líquidos y las comidas se trasladan en sus envases originales o en envases estériles nuevos.



Figura 22: Técnicas de recolección de evidencias
Fuente: <http://institutoprueger.com.ar/>

- **Marcado de las Evidencias**

A mérito que en la Escena del Crimen intervendrán una pluralidad de sujetos, precisándose que sea en orden, siempre existirá el riesgo que los indicios y/o evidencias sean movidos y no devueltos a su lugar original.

Este es el mayor problema al que se enfrentaría una investigación en caso de que se de esta manipulación de indicios y/o evidencias y es ahí cuando se corre el riesgo de que la investigación se vea alterada y no se pueda encontrar pruebas reales para dar la solución a los casos en investigación.

Lo que puede llegar a desvirtuar totalmente el procesamiento de los indicios y/o evidencias hallados.

En este sentido, es inexorable marcar o poner una señal a todo indicio y/o evidencia que consideren los peritos en la escena, que sólo el equipo pericial distingue, a cada indicio y/o evidencia.



Figura 23: Marcado de evidencias
Fuente: <http://claudiagallardojuarez.blogspot.com/>

f. Embalaje, Rotulado y Etiquetado

- **Selección del Envase**

Se debe escoger el envase que proteja mejor la integridad de la evidencia o indicio de posibles daños o alteraciones en el traslado de éstas al laboratorio pericial.

Lo ideal es que el Perito acuda a la Escena del Crimen con una amplia gama de recipientes que pueden ser utilizados para los diversos tipos de indicios y/o evidencias como por ejemplo: (bolsas de papel, de plástico, botellas de vidrio, probetas; todos ellos de distintos tamaños, etc.) para que pueda tener un amplio abanico de posibilidades de envasado.

Asimismo, cuando las muestras sean enviadas a laboratorios geográficamente muy distantes de la escena del crimen, deberá ponerse especial cuidado en la preparación del paquete en el que se envía la muestra envasada.

Es decir, el paquete debe proteger el envase y estar cerrado de tal forma que quien lo reciba pueda observar con facilidad si el mismo ha sido abierto.

Así por ejemplo, si la muestra es enviada en un envase de vidrio, éste tendrá que ser enviado en un paquete que evite la ruptura de dicho envase.

O de ser el caso, si se tiene que enviar objetos que contienen huellas impresas, estos deben ser envasados cuidando que la parte crítica (o sea, la zona exacta donde se encuentra la huella) no tenga contacto con nada que la elimine.



Figura 24: envases de evidencias

Fuente: <http://derechohorvath.blogspot.com/2013/12/tema-ii-la-investigacion-criminal.html>

- **Empaquetado Correcto**

A estas alturas ya tenemos los indicios o evidencias fotografiadas, marcadas y señaladas en la Escena del Crimen; correspondiendo ahora ser enviadas a los laboratorios periciales para sus respectivos análisis.

En este sentido, una vez envasados cada indicio o evidencia (recomendablemente por separado).

Estos deben empacarse en cajas de cartón o madera resistentes, las mismas que deben cerrarse con cinta adhesiva y ser etiquetadas señalando su contenido, lugar donde fue recogido, quién lo recogió; y alguna observación importante (por ejemplo, frágil).

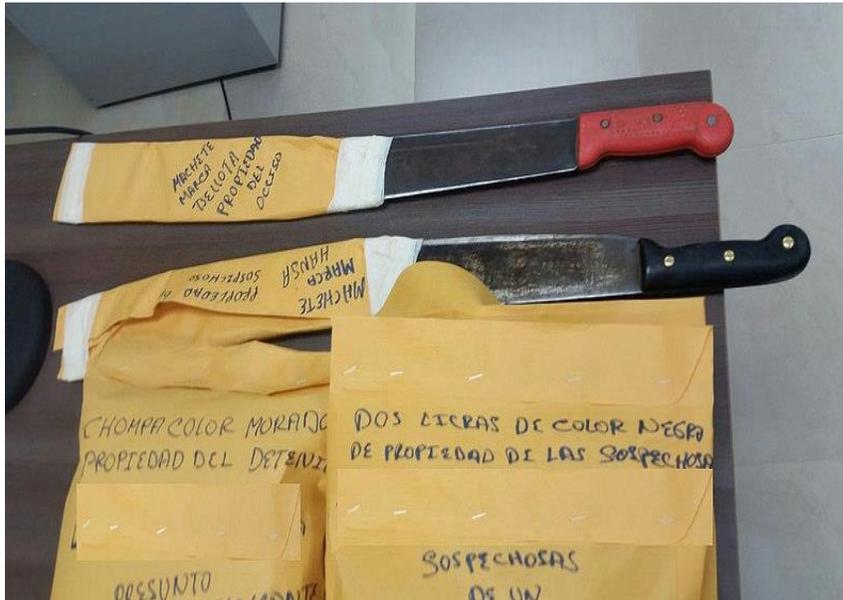


Figura 25: Recepción de evidencias

Fuente: <http://www.ministeriointerior.gob.ec/en-menos-de-24-horas-dinased-detiene-a-presuntos-asesinos-de-ciudadano/>

Finalmente deberán aparecer visiblemente absolutamente todos los datos de la escena.

Así como también las firmas de las autoridades intervinientes (policía, Fiscal, e incluso podría firmar el abogado defensor) durante la recolección de los indicios y/o evidencias antes de ser trasladados para su respectivo peritaje.

Para de esta manera dar por iniciada la respectiva cadena de custodia. No obstante se utilicen sellos, rotulados prediseñados, etc. que garanticen su contenido.

g. Cadena de Custodia

En términos generales, incluye el resguardo de toda la escena del crimen; pero en términos técnicos, la Cadena de Custodia sólo recae sobre las evidencias e indicios.

Dicha cadena debe iniciarse desde el momento en que se constata el hecho en la materia de denuncia.

Que por lo general es realizada por el personal de la policía, quienes suelen tomar conocimiento de los hechos en primera instancia.

Y en muchos de los casos quienes son los encargados del transporte de los indicios tomados del lugar de los hechos.

En este sentido, la Cadena de Custodia se constituye de facto, con la constatación del hecho criminal por parte del personal policial que llega a la escena del crimen.

Quienes deben acordonar la misma para que todas las evidencias e indicios en su interior permanezcan incólumes hasta la llegada del Fiscal y los Peritos.

Sin embargo, la Cadena de Custodia no termina ahí, sino que continuará vigente hasta que dichos indicios y evidencias sean entregados a su destinatario final.

Que en ciertos casos será el Laboratorio Pericial (que dependiendo del tipo de pericia puede ubicarse en la misma ciudad en donde se está realizando la pericia correspondiente o en otra ciudad en donde se pueda realizar dicha pericia).

Y en otros, será el órgano jurisdiccional; siendo lo invariable que los responsables de la cadena adopten todas las medidas de seguridad necesarias para evitar el extravío de aquellas muestras.

CADENA DE CUSTODIA

La toma de muestras fue el día de/...../.....

Las muestras han sido envasadas y etiquetadas por:.....

Fecha de remisión de muestras al laboratorio:...../...../.....

Condiciones de almacenaje hasta su envío:..... (llenar si procede)

Transporte efectuado por:..... Firma:.....

Recibe en el laboratorio:..... Cargo:.....

Fecha:...../...../..... Hora:..... Firma:.....

SE REMITEN MUESTRAS DE:

<input type="checkbox"/> <u>Lavado</u> piedras, machete, etc.)	<input type="checkbox"/> <u>Hisopo</u>	<input type="checkbox"/> <u>Prendas de vest</u> Estudio de:	<input type="checkbox"/> <u>Soportes solidos</u> (ej. Cuchillo, Estudio de:
<input type="checkbox"/> Vaginal, N° __	<input type="checkbox"/> Vaginal, N° __	<input type="checkbox"/> Semen	<input type="checkbox"/> Semen <input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Bucal, N° __	<input type="checkbox"/> Vulvar, N° __	<input type="checkbox"/> Sangre	<input type="checkbox"/> Sangre <input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Anal, N° __	<input type="checkbox"/> Anal, N° __	<input type="checkbox"/> Orina	<input type="checkbox"/> Orina
<input type="checkbox"/> Otros:.....			
.....			
.....			
.....			

Figura 26: Formato de cadena de custodia

Fuente:

http://www.fiscalia.gob.ec/files/archivos%20AC/COIP%20073%20FGE/Area%20Ciencias%20Forenses/6__Manual_de_Procedimientos_de_laboratorio_de_Biologa_Forense.pdf

h. Actos de Pre-Finalización

Culminada la labor de campo es necesario registrar la actividad pericial de manera formal para que aquella esté revestida de la naturaleza procesal del caso.

Y con dicho propósito, por lo general, se emitirán actas y notificaciones que van a ser emitidas por el autor del fiscal quien realizó la labor de campo en el caso.

Luego, cada Perito interviniente en la Escena del Crimen, deberá remitir sus muestras al Laboratorio que corresponda en cada caso, debidamente respaldado por su cadena de custodia.

Precisando el estudio o análisis que se debe desarrollar sobre la misma. Sin apartarse en ningún momento de todas las indicaciones explicadas líneas arriba respecto del Embalaje y la Cadena de Custodia.

i. Finalización de La Inspección

- **Cierre de la Escena del Crimen**

El Fiscal, discrecionalmente, puede resolver el cierre del acceso a la Escena del Crimen por un periodo de tiempo determinado.

Durante el cual no se le permitirá el ingreso a personal ajeno a la investigación, y se realizarán nuevas inspecciones.

Otra opción es cerrar la Escena del Crimen por tiempo indeterminado para que ésta sea constatada tal cual en fechas futuras.

- **Libre Disposición de la Escena del Crimen**

Del mismo modo, el Fiscal podrá hacer varias disposiciones.

Como por ejemplo que las personas agraviadas (directa e indirectamente) puedan continuar con sus actividades normales dentro de la Escena del Crimen.

La misma que puede ser limpiada, utilizada, manipulada y habitada, pues la inspección pericial ya concluyó y no queda más por investigar. (Moreno, 2010)

j. Formulación del Informe Pericial

Queda claro que los conocimientos que domina un Perito en determinada ciencia, arte u oficio, son necesarios para la correcta persecución de un hecho delictivo y la consecuente administración de justicia.

Por ende, es indispensable que dicho profesional emita un documento, denominado Informe Pericial, el cual será realizado por el Perito a cargo con el resultado de su investigación. En el que se plasmen coherentemente los puntos relativos a su estudio o al análisis de determinada muestra.

Con el propósito de ilustrar, tanto al Fiscal, como de ser el caso y en su momento, al Juez; sobre ciertos conocimientos que sin su ayuda, éstos no comprenderían.

Cabe mencionar que dicho informe deberá tener la siguiente estructura:

- Motivación de la Inspección.
- Descripción de la situación o estado del objeto (persona o bien) sobre el que recayó la Inspección.
- Exposición detallada de lo que se ha comprobado en relación a lo encargado.
- Indicación de los criterios técnicos utilizados en el respectivo examen.
- Nombre y dirección legal de la Unidad que dispuso la Inspección.
- Plena individualización del Perito que suscribe el Informe. (HUAMAN, 2013).

INFORME (PERICIAL/TECNICO) BIOLÓGICO FORENSE
INFORMACIÓN GENERAL

Código:	
Indagación / Instrucción / Causa	
Entidad y Autoridad solicitante:	
Evidencias recibidas y analizadas:	
Responsable entrega de evidencia:	
Responsable recepción de evidencia:	
Peritos Delegados	
Fecha y hora de recepción de evidencias:	
Objetivo (s):	
Fecha entrega del informe:	

Figura 27: Formato de Informe Pericial

Fuente:

http://www.fiscalia.gob.ec/files/archivos%20AC/COIP%20073%20FGE/Area%20Ciencias%20Forenses/6__Manual_de_Procedimientos_de_laboratorio_de_Biologa_Forense.pdf

El Informe Pericial es una estructura formal de presentación de resultados periciales, esta estructura es adecuada para su comprensión e interpretación por parte de lectores que no son especialistas en la materia peritada y que al leerlos lo puedan entender.

Normalmente, pero no de manera excluyente, se trata de operadores del derecho, en particular funcionarios judiciales.

El informe pericial no significa dictamen de valoración pues tiene por finalidad reconocer y describir de manera prolija y detallada las huellas y señales que hubiera dejado la infracción.

El perito tiene la obligación de hacer ante el juez un examen técnico y exhaustivo del lugar y/u objeto a fin de que no se pierda ninguna de la piezas de convicción por ocultas que estén por difícil que sean de ubicar por lo que se vale de procedimientos técnicos.

Su labor constituye en facilitar que se incorpore al juicio, todas las huellas señales rastros de la infracción. (MORENO, y otros, 2012)

Contenido del informe pericial

Los requisitos mínimos obligatorios de todo informe pericial son los siguientes:

1. Parte de antecedentes:

En donde se debe delimitar el objeto del peritaje, esto es, se tiene que especificar claramente el tema sobre el que informara en base a lo ordenado por la jueza o juez, la o el fiscal y / o lo solicitado por partes procesales.

2. Parte de consideraciones técnicas o metodología a aplicarse:

En donde se debe explicar claramente, como aplican sus conocimientos especializados de una profesión, arte u oficio, al caso o encargo materia de la pericia.

3. Parte de conclusiones:

Luego de las consideraciones técnicas, se procederá a emitir la opinión técnica, o conclusión de la aplicación de los conocimientos especializados sobre el caso concreto analizado.

La conclusión será clara y directa en relación a la pericia realizada. Se prohíbe todo tipo de juicios ambiguos, así como cualquier tipo de juicio de valor sobre la actuación de las partes en el informe técnico.

4. Parte de inclusión de documentos de respaldo, anexos, o explicación de criterios técnicos:

Deberá sustentar sus conclusiones ya sea con documentos y objetos de respaldo, grabaciones de audio y video, etc) o con la explicación clara de cuál es su sustento técnico o científico para obtener un resultado o conclusión específica.

Se debe exponer claramente las razones especializadas del perito para llegar a la conclusión correspondiente.

No se cumplirá con este requisito si no se sustenta la conclusión con documentos, objetos, o con la explicación técnica y científica exigida en este numeral.

Sin perjuicio de los requisitos que deben constar obligatoriamente en todo informe pericial, verbal y escrito, el perito designado puede incluir cualquier otra información que considere relevante como parte de su trabajo.

Contenido de las aclaraciones o ampliaciones del informe pericial:

Toda aclaración o ampliación del informe pericial deberá ser pertinente a la pericia dispuesta, y el perito responderá directamente a los requerimientos ordenados por la o el funcionario judicial competente. (JUDICATURA, CONTENIDO DEL INFORME PERICIAL, 2014)

2.2.5 TRAYECTORIA DE LAS MANCHAS DE SANGRE.

La trayectoria de una mancha de sangre se puede determinar si se estudia cuidadosamente su *morfología o forma*.

Bajo este enfoque se abre una nueva categorización existiendo las **manchas estáticas** que son las manchas producidas estando el cuerpo completamente inmóvil las que nosotros veríamos como "gotas" propiamente. Y las **manchas dinámicas** que son manchas producidas por el movimiento del cuerpo las que vendrían a ser las propiamente llamadas "salpicaduras".

Si las gotas de sangre han caído en forma perpendicular (como gota) desde una altura muy corta (de 0 a 15 cm.) tendrán una forma redonda con sus bordes bien definidos.

A partir de los 15 cms, la gota empieza a perder definición en sus bordes los que empiezan a percibirse como dentados. Más allá del metro de altura, alrededor de la gota grande aparecen pequeñas gotas alrededor producidas por la salpicadura de la gota central al caer.

Esta observación nos debe quedar claro que depende la superficie de impacto ya que superficies no uniformes o absorbentes hacen que las gotas de sangre se "rompa" más pronto perdiendo esta forma característica.

Ahora bien, las gotas que son producidas por un cuerpo en movimiento pierden su forma de gota y empiezan asumir una forma que se parece a la de un "bate de béisbol". Del cual debemos entender que la parte más gruesa es la parte donde se produjo el impacto mientras que la parte más delgada es la que indica la dirección de las manchas.

Todo esto podemos resumirlo en la siguiente secuencia gráfica a la que añadimos una explicación adicional.

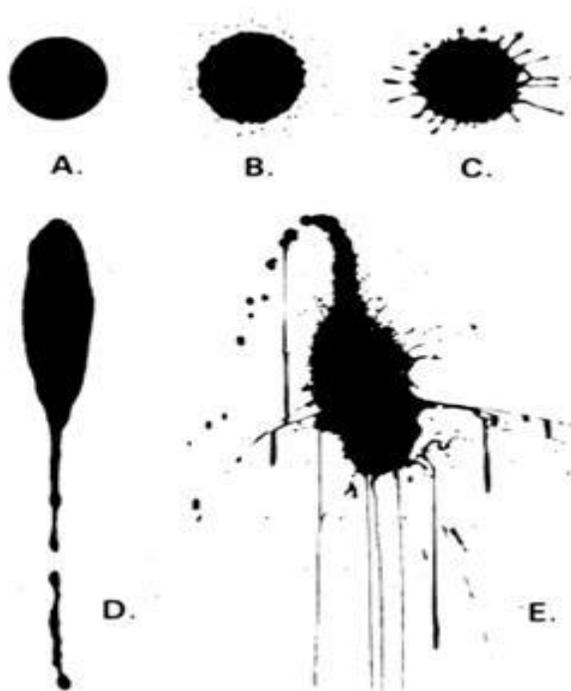


Figura 28 Trayectoria de las manchas de sangre
 Fuente: [http:// www.monografias.com/trabajos81/serologia-forense/serologia-forense2.shtml](http://www.monografias.com/trabajos81/serologia-forense/serologia-forense2.shtml)

- A). Mancha producida por una caída desde 20 cms.
- B). Mancha producida por una caída desde 1 mt.
- C). Mancha producida por una caída desde 1.8 mts.
- D). Mancha producida por una caída desde 40 cms. con un ángulo de 25o
- E). Mancha producida por 10 ml de sangre lanzados sobre una pared vertical lisa. (Moreno, 2010)

2.2.6 PRUEBAS PARA IDENTIFICACIÓN DE SANGRE HUMANA EN CIENCIAS FORENSES

El rastreo hemático en la práctica forense en muchas ocasiones aporta a los tribunales elementos de prueba muy importantes.

Ya que estos nos sirve tanto para señalar si una mancha de sangre recogida del lugar de los hechos puede provenir de la víctima o del victimario, o indicar con mayor certeza que no hay similitud entre la sangre hallada y la de la víctima o su asesor.

Karl Landsteiner descubre la existencia del sistema ABO en 1901, al observar que la sangre humana tenía características individuales que se manifestaban por reacciones de aglutinación y que son propias de cada individuo.

Pues encontró que los eritrocitos de unas personas eran aglutinados o agrupados por el suero sanguíneo de solamente algunos otros individuos.

Este hallazgo dio origen al hallazgo de otros grupos como el MN, el P, el sistema Rh y muchos más que son muy poco conocidos pero que sin duda aportan una valiosa información en lo que tiene que ver a grupos sanguíneos.

No se trata solamente del grupo sanguíneo de una persona o de sus posibles patologías, para poder diferenciar plenamente a un individuo de los demás es necesario el trabajo de laboratorio con una muestra encontrada durante el rastreo hemático.

La cuál será analizada para identificar plenamente a una persona diferenciándola claramente de otras ya que las características que se identifican son irrepetibles e inconfundibles. (Carreño, 2006)

Los procesos que se pueden seguir son:

DETERMINACIÓN DE ENZIMAS Y PROTEÍNAS EN MANCHAS DE SANGRE.

En los eritrocitos de la sangre existen una serie de sustancias que en Criminalística tienen una gran importancia, debido a que su determinación incrementa el grado de probabilidad en la individualización de las manchas de sangre.

Estas sustancias son las enzimas, algunas de ellas con un gran polimorfismo interesante desde el punto de vista forense, cuando son separadas en los componentes proteínicos llamados isoenzimas, de las cuales son particularmente importantes: la Fosfoglucomutasa (PGM), adenilatokinasa (AK), fosfatasa ácida eritrocítica (EAP), etearasa (D EsD), y entre las proteínas cobra particular interés la haptoglobina (Hp), fundamentalmente porque sobrevive determinado tiempo (no muy corto) en manchas de sangre seca.

La PGM y la Hp son las más usadas para fines de individualización y ambas pueden separarse eficientemente por procedimientos de electroforesis. La importancia de su separación reside en el hecho de que no todas las personas tienen exactamente las mismas variantes. Las tres variedades más comunes de la PGM son: PGM 1-1, PGM 2-1 y la PGM 2-2. las de haptoglobina corresponden también a la Hp 1- 1, Hp 2-1 y Hp 2-2.

Ahora bien, uniendo los resultados inmunológicos a la combinación de estas proteínas (llamadas también marcadores genéticos), se obtienen las tablas de distribución en la población que dan pie para aumentar las probabilidades de exclusión o márgenes de error.

El pionero de la aplicación de del método de separación de enzimas en hematología forense fue Culliford, del laboratorio de la Policía Metropolitana de Londres, quien determinó que pueden ser satisfactoriamente detectadas en manchas de sangre mediante procedimientos electroforéticos sobre capas de gel de almidón. Procesos que pueden ser llevados a cabo siempre y cuando se cuente con cantidad suficiente de muestra problema en buen estado de conservación, ya que la posibilidad de encontrarlas va decreciendo con la desecación en el siguiente orden:

Sistema ABO, Rh, Hp y PGM, esto es, que los antígenos del primer sistema pueden durar años en condiciones de ser evidenciados, los del sistema Rh

algunos meses; las Hp semanas, y por último las PGM tan sólo después de unos días.

Posteriormente a los estudios de Culliford y sus colaboradores sobre el gel de almidón, es Grunbaum de la Universidad de Berkeley en California, quien se preocupa por la investigación de marcas genéticas y a él se deben las técnicas de electroforesis en Microzona y sobre tiras de acetato de celulosa, que requieren de un tiempo menor en su resolución. (Carreño, 2006)

PRUEBAS DE ADN

Las pruebas de ADN para determinar la paternidad son las utilizadas, éstas se realizan comparando la secuencia de ADN del padre, del niño/niña y de la madre.

La combinación de las secuencias de ADN del padre y de la madre debe dar como resultado la secuencia del niño/niña; solo de esta manera se tendrá una seguridad, generalmente de más del 99%, sobre la paternidad del menor de edad.

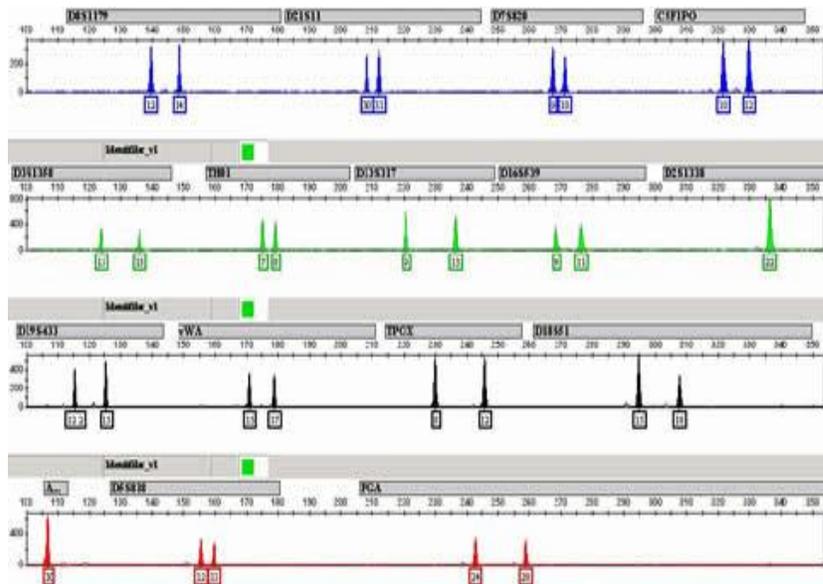


Figura 29 Prueba de ADN
Fuente: http://www.perfiladn.com.mx/art_revision.php

Los márgenes de error dependerán del tipo de muestra que se analizará. Las muestras no estándar no siempre garantizan la obtención de un perfil de ADN.

En algunos casos lo que se busca determinar es la línea genética materna, en este caso se recurre al ADN mitocondrial que la madre transmite al hijo/hija y que a su vez es transmitido por los mismos a sus descendientes.

Este tipo de pruebas sirve para determinar linajes en varias generaciones y fue utilizado para conocer cómo ha evolucionado el genoma humano desde la aparición del Homo sapiens, a través de la Eva mitocondrial, la primera madre que dio origen a la humanidad moderna.

De ahí que, en cierto nivel generacional, grandes poblaciones humanas comparten una misma ancestralidad y ADN mitocondrial.

Procedimiento

a) Revisión de la muestra. Las muestras que llegan al laboratorio de genética son revisadas por un técnico que aparta la muestra que ocupará y guarda el resto.

b) Extracción de ADN. A través de proceso químico y mediante la utilización de reactivos se extrae el ADN de todas las células. Después de extraer y purificar, el ADN es entonces combinado con 16 diferentes primers de ADN dirigidos a ubicaciones específicas (loci) en la molécula de ADN para su amplificación. Los segmentos de ADN en estos loci se denominan marcadores, porque sirven como marcas identificatorias de los individuos.

c) Amplificación. La mezcla del primer de ADN pasa a través de ciclos de calor y frío para amplificar los marcadores en un proceso de replicación parecido al de una copia xerox, esto en una máquina conocida como PCR (reacción en cadena de la polimerasa, traducción de polymerase chain reaction) se multiplica o aumenta cada muestra de ADN extraída.

También se amplifica varios millones de veces y analiza sofisticadamente mediante la técnica STR (traducido del inglés “short tandem repeticions” es: repeticiones cortas en tándem). La metodología usada permite un poder de determinación de paternidad de 99.99% mientras que el poder de exclusión es de 100%.

d) Detección. Una vez que los marcadores han sido amplificados, son detectados por instrumentos de alta sensibilidad, que determinan el tamaño de los marcadores en cada uno de los locus de ADN sometido a prueba.

Cada locus de ADN es comprimido por dos alelos, o copias del marcador uno heredado de la madre y otro heredado del padre. Por ello, el informe de perfil de ADN, también llamado informe de tipificación de ADN, listará típicamente dos tamaños de marcadores para cada locus.

La combinación de tamaños de los 16 marcadores representa un perfil de ADN que es único para ese individuo.

e) Comparación y estadística. Se colocan todas las muestras de ADN en máquinas especiales para determinar a qué persona pertenecen.

La comparación es para establecer diferencias y se proyectan estadísticas en las que se refleja la posibilidad de que el ADN encontrado pertenece a la persona estudiada. (Carreño, 2006)

TÉCNICAS DE ORIENTACIÓN PARA LA IDENTIFICACIÓN DE LA SANGRE

TÉCNICA DE BENCIDINA O ADLER

Fundamento químico: Las peroxidases sanguíneas son catalasas que, como su nombre lo indica, poseen actividad catalítica en las reacciones de oxidación, ya que tienen la propiedad de descomponer el peróxido de hidrógeno u otros peróxidos orgánicos, produciendo la liberación de radicales oxhidrilo.

El grupo hem de la hemoglobina posee esa actividad enzimática, que puede catalizar la ruptura del peróxido de hidrógeno. Mientras no estén presentes otras sustancias orgánicas oxidantes, esa actividad de la hemoglobina, descompone el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno, que al reaccionar con la bencidina la oxidará formando un compuesto intensamente azul. Esta técnica tiene una sensibilidad de 1,300,000 a 500,000.

Un resultado negativo excluye la presencia de sangre; si la reacción es positiva requiere, como toda técnica de orientación, del empleo de reacciones de confirmación. Necesita de estas reacciones ya que se pueden obtener falsas reacciones positivas con otras sustancias que tengan actividad semejante a las peroxidases o bien con otros materiales oxidantes como las manzanas, espárragos, frijol, zarzamora, entre otros.



Figura 30 Prueba de Bencidina
Fuente: http://www.perfiladn.com.mx/art_revision.php

Preparación del reactivo

a) Solución de bencidina 0.25 g. de bencidina se disuelven en 175 ml de etanol y se añaden 5 a 10 gotas de ácido acético glacial. Se guarda en un frasco gotero ámbar, en refrigeración.

b) al 3%; también en un frasco gotero ámbar.

Procedimiento:

- a)** Humedecer un hisopo con agua destilada y frotarlo sobre la mancha problema.
- b)** Añadir al hisopo 1 ó 2 gotas de solución bencidina, después de unos momentos de observar que no de coloración con ésta.
- c)** Poner la misma cantidad de sobre el hisopo.
- d)** En caso positivo aparecerá rápidamente una coloración azul. (Carreño, 2006)

TÉCNICA DE LA FENOLFTALEÍNA O DE KASTLE-MAYER

Fundamento químico: Esencialmente la rige el mismo principio que se mencionó en la reacción de Adler. La diferencia estriba:

- a)** La fenolftaleína debe ser reducida previamente a fonolftaleína incolora y este reactivo, por su labilidad, debe ser guardado en refrigeración en frasco ámbar.
- b)** Se trabaja en medio alcalino en vez de un medio ácido.
- c)** Se efectuará un calentamiento previo a 100 °C durante un minuto. Se apuntará a continuación el comportamiento de las peroxidasas vegetales, que explicará el porqué de las modificaciones apuntadas:
 - a) Termolabilidad:** Se ha confirmado que las peroxidasas vegetales se inactivan por calentamiento a 100 °C. A la misma temperatura las peroxidasas de origen animal son estables. Un período de un minuto a 100 °C servirá para diferenciar una de otra.
 - b) Tiempo:** Las peroxidasas de origen animal son muy estables, las manchas de sangre humana dan resultados positivos aún después de varios meses de haberse producido.

Cuando manchas de la misma edad pero de origen vegetal son tratadas de esta manera, dan resultado negativo.

c) pH: las peroxidasas de las plantas reaccionan en medio ácido, pero no en medio alcalino. Por esta razón, ésta técnica. A pesar de esto debe efectuarse pruebas testigo sin añadir agua oxigenada a muestras previamente calentadas. Esta técnica es mucho más sensible que la de la bencidina, siendo esta sensibilidad de 1: 1,000,000 a 10,000,000.

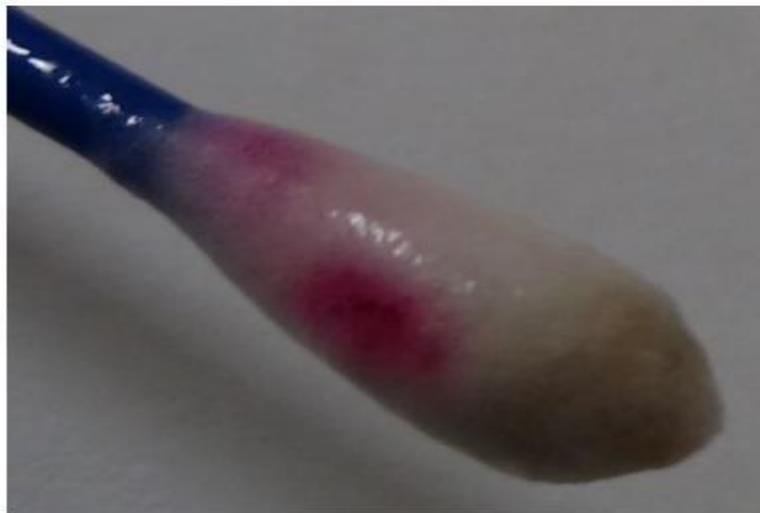


Figura 31 Prueba de Kastle-Mayer
Fuente: http://www.perfiladn.com.mx/art_revision.php

Preparación del reactivo

a) Solución de fenolftaleína: - Fenolftaleína 2g - Hidróxido de potasio 20 g - Agua destilada 100 ml. - Polvo de zinc 20g Disolver estas sustancias y colocarlas a reflujo con el polvo de zinc hasta completa decoloración. Esta solución madre deberá guardarse en un frasco ámbar en refrigeración y deberá añadirsele polvo de zinc.

b) Solución de trabajo: Diluir la solución madre en etanol en la proporción de 1:5; la que también deberá refrigerarse en tanto no se use.

c) Solución de agua oxigenada al 3%

Procedimiento

- a)** Humedecer un hisopo con solución salina, frotar la muestra problema y pasarlo a un tubo de ensaye con 2 ml de la misma solución.
- b)** Calentar un minuto a 100 °C
- c)** Añadir unas gotas del reactivo, esperar unos segundos
- d)** Agregar agua oxigenada.
- e)** En caso positivo se obtendrá una coloración rosa brillante. (Carreño, 2006)

TÉCNICA DE LEUCO MALAQUITA VERDE

Fundamento químico Se basa, al igual que las anteriores en una reacción de oxidación y reducción. La estructura química de esta sustancia recuerda a la de la fenolftaleína.

El prefijo leuco se refiere a la forma reducida incolora; la forma leuco puede ser preparada por reducción de la malaquita verde.

Como en el caso de la fenolftaleína, la forma leuco puede ser oxidada por la acción de las peroxidasas para dar la forma oxidada verde.

Esta técnica fue reportada por Hunt, quien señala la encontró más confiable para sangre, aunque menos sensible que la bencidina.

Preparación del reactivo

- a)** Se prepara una mezcla sólida que contenga: 0.32 g de perborato de sodio y 0.10 gr. De malaquita verde; se mezclan perfectamente y se guardan en frasco ámbar. Esta mezcla dura un año sin perder su estabilidad.
- b)** El solvente se prepara diluyendo 6.6 ml de ácido acético glacial en 3.3 ml de agua destilada.

c) Preparar el reactivo de trabajo, inmediatamente antes de usarlo, disolviendo la mezcla sólida a) en la solución b); si en el reactivo recién preparado llegara a observarse la más leve coloración verde, no deberá usarse.

Procedimiento

a) La mancha sospechosa, se levanta con un hisopo humedecido en agua destilada

b) Se le agregan unas gotas del reactivo recientemente preparado.

c) En caso positivo se observará una coloración verde. (Carreño, 2006).

TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS

Estas técnicas permiten poner de manifiesto, mediante espectros de absorción, la presencia de hemoglobina y/o de alguno de sus derivados, en manchas de sangre. La hemoglobina, diluida en agua (oxihemoglobina) tiene dos bandas de absorción en la zona del espectro visible cuyos máximos se encuentran a 575 y 540 nm respectivamente; así como la banda de Soret, típica de los derivados porfirínicos, próxima a la región del ultravioleta, que para la hemoglobina se encuentra a 412 nm siendo esta banda mucho más ancha que las dos primeras.

En la investigación criminalística, no es suficiente con obtener el espectro de la oxihemoglobina, sino que es necesario someter la muestra en una marcha espectral. Algunos autores (Gisbert Calabuig) señalan lo siguiente:

a) Se extrae la mancha de sangre con agua destilada

b) Se filtra

c) Se lleva al espectrofotómetro ultravioleta visible de doble haz, que permita realizar un barrido espectral con registro gráfico; la hemoglobina así estudiada registra bandas de absorción a 575, 540 y 412 nm

d) Posteriormente, y a ese mismo tubo, se añaden unas gotas de reductor como el sulfhidrato de amonio recientemente preparado, formándose así el hemocromógeno, con el que se registran bandas de absorción con máximos a 559 y 530 nm.

En la práctica forense cotidiana en el laboratorio de la PGJDF se ha comprobado que una mancha es de sangre con una metodología mucho más simple y rápida:

a) Impregnar un pequeño trozo de 5x5 mm de tela limpia, sin apresto, de color blanco con la muestra problema.

b) Colocar la muestra así obtenida en un tubo de ensaye y añadirle 5 ml de agua destilada, dejándola reposar durante 10 minutos para lograr una eficiente extracción; pasado este tiempo filtrar.

c) Efectuar el barrido espectral en la zona de espectro visible; se obtendrán tres bandas de absorción; dos finas a 575 y 540 nm y una banda ancha a 412. Este espectro corresponde a la oxihemoglobina.

d) Efectuar nuevamente la extracción de la muestra como se indica en el punto 2, pero utilizando en vez de agua destilada, 5 ml de una solución de ferricianuro de potasio al 0.5 %. Al realizar el barrido espectral en la región del visible, se obtendrá una banda a 630 nm banda que corresponderá a la metahemoglobina.

e) Sobre la misma celda de muestra, añadir unos gránulos de cianuro de potasio; al efectuar el registro espectroscópico, deberá desaparecer la banda de la longitud de onda correspondiente a 630 nm y se obtendrá una banda a 540 nm debida a la formación de cianometahemoglobina.

Para realizar estas experiencias se utilizó un espectrofotómetro ultra violetavisible, modelo DH-2^a de doble haz y provisto de monocromador.

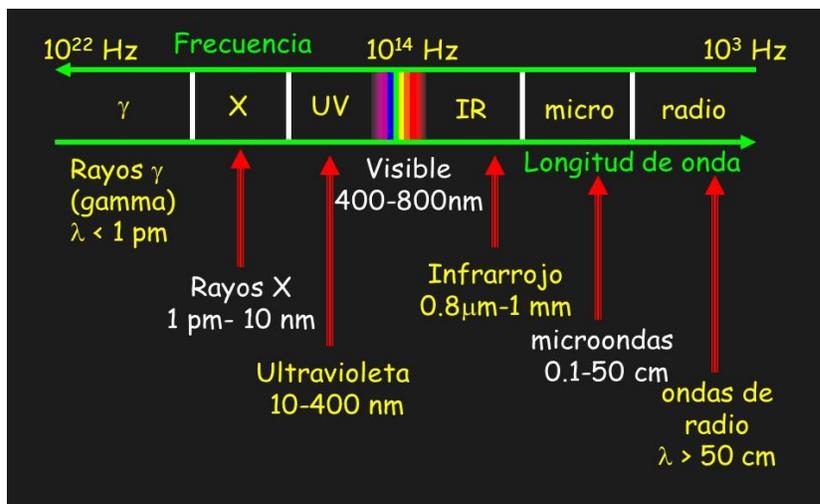


Figura 32 Técnica espectroscópica
Fuente: <http://slideplayer.es/slide/8951316/>

TÉCNICA DE LUMINOL

Químicamente, el luminol se denomina 3 aminophtalahidrazida (5-amino-2, 3-dihidro-phthalazino-1,4-diona), fue sintetizado por Smicthz en 1902 y comprobó que esa sustancia produce una quimioluminiscencia (producción de luz por reacción química) de color azul fluorescente en soluciones ácidas con pH menor 7.

De acuerdo a los antecedentes, en 1927 Lommel observó que esa quimioluminiscencia después de la oxidación del compuesto en medio alcalino (soluciones con pH mayores a 7).

En 1934, Albrecht denominó a ese compuesto como “Luminol”, por dichas propiedades quimioluminiscentes. Además descubrió que esa reacción se presentaba en presencia de peróxido de hidrógeno. En 1936, Gleu y Pfannstiel descubrieron que el luminol presentaba luminiscencia en la presencia de sangre. Esto se debe a la capacidad de peroxidación de la hemoglobina.

En 1937 se reportó la primera aplicación forense del Luminol, como prueba presuntiva de detección de sangre, dicho ensayo fue realizado por Walter Specht.

Este investigador roció sangre en varios substratos como paredes, gradas, piedras y tierra; dejándola expuesta por 14 días bajo condiciones ambientales. Seguidamente aplicó el Luminol y fotografió los resultados.

Todas las áreas que contenían las manchas de sangre presentaron luminiscencia que perduró por 15 minutos. En esta ocasión, el luminol funcionó adecuadamente con manchas de sangre antiguas y frescas; se observó mayor respuesta quimioluminiscente en las manchas de sangre viejas, que en las manchas frescas o nuevas.

En 1939, los investigadores Moody Y Proescher, basándose en la investigación de Specht, aplicaron luminol en papel, tela y piezas de hierro que contenían manchas de sangre de tres años de antigüedad, obteniendo resultados satisfactorios.

En 1942, McGrath, recomendó el uso de la prueba de luminol para la detección de sangre, él notó que las manchas de sangre viejas daban una reacción más fuerte y prolongada, debido a que en éstas hay mayor concentración de metahemoglobina hemática.

En 1978, los investigadores Lytle y Hedgecock estudiaron los efectos del luminol en solución alcalina, en la sangre detectada por la prueba, concluyendo que no afectaba la actividad enzimática de los eritrocitos, pero no reportaron los efectos del reactivo en la determinación del grupo ABO en las manchas, ni análisis de marcadores genéticos (ADN).

Es importante mencionar que la prueba de luminol es extremadamente sensible en la detección de sangre. En 1986, Thornton y colaboradores detectaron luminiscencia a simple vista, proveniente de sangre que fue diluida 1:10000 partes.

La prueba de luminol emplea carbonato de sodio para crear una solución alcalina (pH entre 10.4 – 10.8), perborato de sodio como agente oxidante y el

luminol como la sustancia a ser oxidada con la subsecuente emisión de luz, la sangre es el sistema peroxidasa que cataliza la reacción.

Fundamento teórico de la prueba de luminol

1. Carbonato de sodio.
2. Perborato de sodio trihidratado.
3. Luminol, reactivos utilizados:
 - a. Pesar 3.5 gramos de perborato de sodio en una balanza analítica y depositar la medida en un beaker de 1,000 ml de volumen.
 - b. Pesar 25 gramos de carbonato de sodio y 0.5 gramos de luminol en una balanza analítica y colocarlos juntos en un recipiente limpio.
 - c. Medir un volumen de agua destilada de 500 ml con una probeta de 1,000 ml de capacidad.
 - d. Agregar los 500 ml de agua destilada al beaker con los 3.5 gramos de perborato de sodio.
 - e. Agitar hasta disolver por completo.
 - f. Agregar a esta solución la medida de carbonato de sodio y luminol.
 - g. Agitar hasta disolver por completo.
 - h. Verter la solución disuelta en el atomizador.

Antes de la aplicación del reactivo el personal debe vestir prendas que lo protejan del contacto directo con el luminol. Es básica la utilización de mascarillas que impidan la inhalación del atomizado.

Se debe procurar la completa oscuridad para la aplicación del reactivo. Aplicar el reactivo por aspersion, en las zonas del escenario en donde se sospecha la presencia de sangre.

El luminol es una sustancia química que se oxida en una solución alcalina en presencia de perborato de sodio (NaBO_3) y un sistema peroxidasa (como la sangre).

Esta técnica consiste en la aplicación del reactivo de luminol, utilizado en el campo forense para la determinación presuntiva de sangre. La detección presuntiva de sangre en un área específica y/o escena de crimen.

Para la determinación de presencia presuntiva de sangre en un área específica y/o escena de crimen, se rocía el reactivo de luminol directamente sobre el lugar donde se sospecha la existencia de sangre no visible macroscópicamente.

La prueba se basa en la propiedad peroxidasa de la sangre en la que ésta sirve de catalítico para que el luminol sea oxidado por el perborato de sodio en un medio alcalino, y como consecuencia genera quimioluminiscencia en la oscuridad, siendo la reacción:

Luminol + NaBO₃ sangre Luciferasa = Luminiscencia

La detección presuntiva de sangre con el luminol sirve como un elemento de prueba legal para reconstruir las circunstancias de un crimen (mostrando patrones de salpicaduras o huellas), o simplemente para demostrar la presencia química de sangre.

También puede ser aplicada como una prueba de tamizaje en indicios donde se busca distinguir entre sangre y otras sustancias (como polvo, pintura, cosméticos, comida entre otros). (Anatomía del Crimen, 2011)

La sensibilidad para detección de sangre de la prueba de Luminol, es de 1:1,000,000.

El luminol es el 3 amino-ftalhidracina y el reactivo se prepara de la siguiente manera, en el momento de utilizarse:

Solución A. Luminol 0.1 gr. Carbonato de sodio 1 gr. Agua destilada c.b.p. 100 ml.

Solución B. Hidracina hidratada al 95% 01 gr. Agua destilada 100 partes

a) Al ml de la solución A, se añade una gota de agua oxigenada e inmediatamente después, 2 gotas de la solución B.

b) Se espera un minuto y la mezcla se asperje sobre la zona sospechosa.

c) En caso positivo, las manchas de sangre producen luminiscencia.

Como reactivo, no altera la mancha, se puede continuar con la metodología normal.

Observaciones generales sobre aplicación del luminol:

1. En estudios realizados se demostró que la sangre seca, descompuesta y más vieja emite una luminiscencia más brillante.

2. Una luminiscencia puede ser reactivada por la aplicación de luminol fresco en forma de spray después de una aplicación previa que se ha secado, ya que la sangre puede ser detectada en una dilución de 1:1, 000,000.

3. La aplicación del reactivo del luminol debe hacerse en forma de spray, utilizando un atomizador. La aplicación debe ser tenue y ligera sobre la superficie.

4. El reactivo de luminol debe aplicarse en oscuridad.

5. Una reacción positiva se observa como una luminiscencia azul.

6. Es procedente aplicar luminol cuando:

✓ Se supone lavados para manipular o hacer desaparecer restos de sangre.

✓ No se observan manchas de sangre macroscópicamente.

✓ Se desee rastrear un área donde se deseen reconstruir los hechos.

✓ El área sea cerrada y haya sido preservada adecuadamente, y no haya sido expuesta a condiciones climáticas desfavorables como la lluvia.

✓ En el área no exista contaminación por el paso continuo de personas o limpieza continua durante mucho tiempo.

7. Cuando se solicite una prueba de Luminol se recomienda asegurarse que las condiciones para su realización sean adecuadas.

Y sobre todo que se informe el tamaño del área que se va a hacer un muestreo, con el objeto de calcular la cantidad de reactivos necesarios para su aplicación, además de tomar en cuenta las condiciones bajo las cuales se ha mantenido la escena. (Carreño, 2006)



Figura 33 Imagen de sangre con técnica de luminol
Fuente: <http://www.dudeiwanthat.com/gear/novelty/luminol-spray.asp>

CRISTALES DE HEMINA O DE TEICHMANN

En 1853 Ludwig Teichmann, en Polonia, desarrolló el primer ensayo cristalográfico para hemoglobina, usando cristales de hemina o hematina. El método es aplicable cuando la mancha de sangre se encuentra sobre metales oxidados o cuando se ha sometido a altas temperaturas.

Se admite desde entonces que si se observa la formación de los cristales, la mancha es, con toda seguridad, de sangre, existiendo dudas si la prueba resulta negativa.

Describió el método conocido como prueba de TEICHMANN y que consiste:

- Disolver la mancha de sangre seca aparecen unos cristales característicos de la sangre que llamó cristales hemínicos y que se forman a partir de la Hemoglobina.
- Colocar unas gotas en un cristal junto con una pequeña cantidad de sal común y ácido acético cristalizado Calentar hasta la ebullición de la mezcla.

Sirve para la identificación de sangre, ya sea humana o animal. El método de Teichmann ha demostrado ser seguro y confiable.

GENERALIDADES:

Se han hecho la prueba con sangre de gato, de perro, de vaca y de cabra. Los cristales se forman con todas las muestras pero tienen diferente aspecto al que presentan los cristales de hemina con sangre humana.

Los cristales de hemina que se forman son romboidales y de color sepia característicos de las manchas de sangre.

Fundamento químico:

La hemoglobina, cuando es tratada con ácido acético, se separa inmediatamente de las proteínas y del grupo prostético.

Durante la hidrólisis la globulina se desnaturaliza. La oxidación del fierro 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 ferriprotoporfirina o hemina.

Preparación del reactivo

a) Cloruro de sodio 0.1 gr.

b) Bromuro de potasio 0.1 gr. **c)** Ioduro de potasio 0.1 gr.

d) Ácido acético c.b.p. 100 ml.

Procedimiento

a) Colocar la muestra problema en el centro de una laminilla de vidrio y poner encima de ella un cubreobjetos.

b) Deslizar entre lámina y laminilla por capilaridad, unas gotas del reactivo de Teichmann.

c) Calentar lentamente y a baja temperatura la laminilla hasta evaporación.

d) Dejar enfriar y observar al microscopio.

e) En caso positivo se observarán cristales romboidales de color café oscuro. (Carreño, 2006)

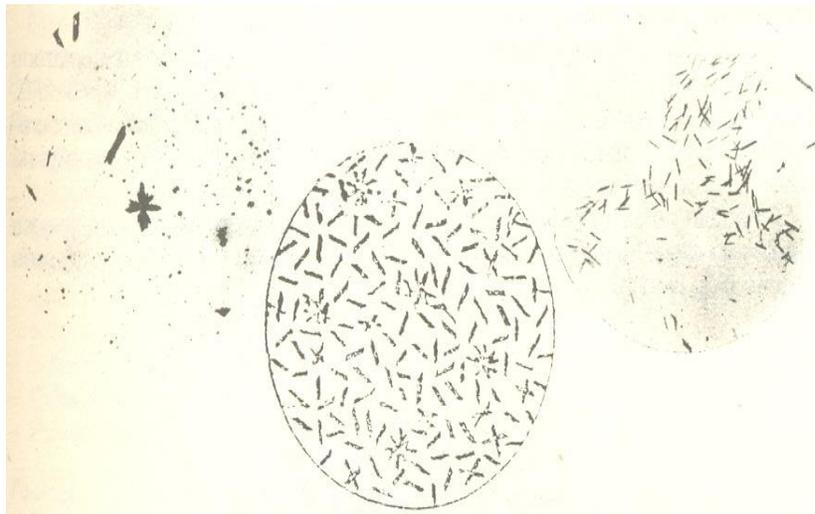


Figura 34 Imagen de Cristales de Hemina
Fuente: <http://b.se-todo.com/doc/13374/index.html?page=3>

PRUEBA DE TAKAYAMA (HEMOCROMÓGENO)

Está basado en la obtención de los cristales de piridina - hemocromógeno como consecuencia de acción del reactivo sobre la hemoglobina.

El reactivo consiste en una mezcla de piridina, solución saturada de glucosa y solución de hidróxido de sodio: los cristales obtenidos son de color rosado intenso.

Se coloca en el centro de un porta objetos una gota de extractos de mancha preparado como se indicó en la técnica de Teichmann. Se evapora con calentamiento suave, se agrega una gota de reactivo de Takayama y sobre un porta objetos se vuelve a evaporar hasta sequedad. Para luego ser observado en el microscopio.

Como resultado positivo se vera de color rosado y de aspecto de red o similar a los helechos.

Fundamento químico 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.

Mecanismo de reacción:

El hidróxido de sodio efectúa una hidrólisis alcalina, liberando el grupo prostético de la globina; el fierro del hem en este momento se encuentra como ión férrico (+3) debido a la formación de la metahemoglobina en el proceso de desecación de la mancha de sangre.

La carga (+3) del fierro se neutraliza por el ión OH.

Calentando la glucosa (a azúcar reducida), se reduce el ión férrico a ferroso (+2) y la piridina se combina con éste para formar un producto cristalino insoluble: el hemocromógeno o piridinferroprotoporfirina.

La prueba es más sensible y sencilla que la de los cristales de hemina y no se dan casos de falsas reacciones positivas.

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% 18
- 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.

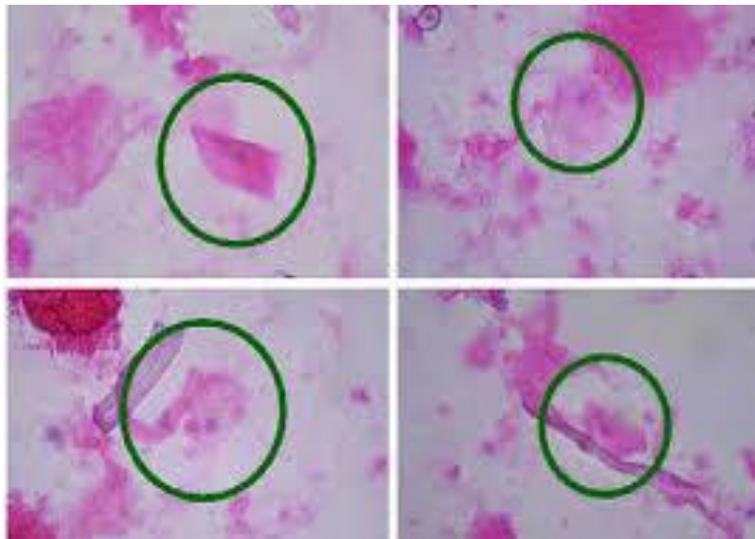


Figura 35 Imagen de la Prueba de Takayama
Fuente: <http://www.gep-isfg.org/archivos/201301/X%20Jornadas%20de%20Genetica%20Forense.pdf>

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.

En caso positivo se observarán cristales romboidales de color rosa alrededor de la muestra. (Carreño, 2006)

TÉCNICAS DE DETERMINACIÓN DEL ORIGEN DE LA SANGRE

La técnica de elección para determinar si una mancha de sangre es de origen humano, es la reacción de las precipitinas descubierta en 1900 por Uhlenhuth.

Fundamento de la técnica Las moléculas del anticuerpo (inminoglobulina) reacciona con el antígeno (proteína soluble) para formar un precipitado fácilmente visible bajo condiciones de luz apropiadas y a las concentraciones equivalentes de antígeno y de anticuerpo.

Esta reacción atígeno-anticuerpo está influida por varias fuerzas, interactuando entre los factores reaccionantes como lo son: las fuerzas de Van der Walls, puentes de hidrógeno, interacción de dipolos, atracción entre los antígenos no polares y la superficie del anticuerpo, y la atracción electrostática.

La reacción misma tiene lugar en varias etapas. Inicialmente se forma un complejo antígeno- anticuerpo soluble; conforme la reacción prosigue, ese complejo empieza a unirse y forma una tupida red compuesta de moléculas de anticuerpo bivalente y moléculas de antígeno polivalente.

Esta Formación crece rápidamente formando partículas del tamaño suficiente como para ser insolubles y formar un precipitado visible.

Debe tenerse en mente que para que la reacción se lleve a cabo se requiere que la concentración del antígeno y del anticuerpo sean equivalentes.

La técnica de precipitinas en tubo o en capilar, tiene la ventaja de ser rápida y sencilla pero es necesario tener una muestra clara.

En ella debe efectuarse una cuidadosa estratificación en donde la capa de la solución del antígeno se encuentra sobre la preparación del anticuerpo.

La precipitación sobre gel tiene una 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 más costoso.

Factores que afectan la reacción de las precipitinas.

Son varios: la edad de la muestra; su exposición al aire, a la luz solar, a la humedad y a las altas temperaturas; el grado de putrefacción y la contaminación con compuestos químicos, tales como detergentes.

Además la reacción debe efectuarse en condiciones óptimas de temperatura, de pH, de solubilidad de la muestra y de dilución del extracto obtenido de ella.

Especialmente la edad y la putrefacción causan degradación de las proteínas de la sangre; la exposición al aire, a la luz solar y a la humedad a menudo producen cambios por oxidación.

El extracto de la mancha de sangre debe tener un pH casi neutro y la prueba debe llevarse a cabo a la temperatura del laboratorio (aproximadamente 22 °C).

Los extractos deben prepararse en el menor volumen posible, procedimiento que para algunas muestras requiere de 24 hrs. en refrigeración.

El tiempo adecuado dependerá de las condiciones de la muestra y el título de dilución deberá ser de 1 a 1,000. (Carreño, 2006)

TÉCNICA DE INMUNOELECTROFORESIS CRUZADA PARA IDENTIFICAR SANGRE HUMANA

Fundamento:

Esta técnica inmunoquímica se basa en las reacciones que se efectúan entre un antígeno que emigra anódicamente y un anticuerpo que emigra hacia el cátodo 20 durante una electroforesis.



Figura 36 Muestras para inmunolectroforesis cruzada
Fuente: <http://criminalistica.mx/descargas/documentos/pdf/TecnicasHematologiaForense.pdf>

Sobre una placa de agarosa, se hacen horadaciones en pares; el antígeno (seroalbúminas y alfa y beta globulinas) se coloca en una de ellas y el anticuerpo (gamma globulinas) en la otra. Una vez terminada la electroforesis aparecen bandas visibles de precipitación entre las perforaciones pares de los materiales proteínicos específicos.

Material y equipo

- a) Cámara de electroforesis
- b) Fuente de poder con control de voltaje hasta 500 v, 20 ma y control de tiempo.

- c) Puentes de papel filtro u otro material absorbente.
- d) Perforador y extractor de gel aproximadamente 2 mm de diámetro.
- e) Micropipetas graduadas
- f) Portaobjetos desgrasados y pulidos.

Reactivos:

- a) Suero antihumano completo
- b) Agar
- c) Ácido dietilbarbitúrico
- d) Barbital sódico
- e) Lactato de calcio

Preparación de reactivos:

- a) Buffer para la cámara de electroforesis (pH 8.6). - Ácido dietilbarbitúrico 1.38 g - Barbital sódico 8.76 g - Lactato de calcio 0.384 g - Agua deionizada c.b.p. 1000 ml
- b) Buffer para el gel (pH 8.6) - Ácido dietilbarbitúrico 1.1 g - Barbital sódico 7.0 g - Lactato de calcio 1.0 g - Agua desionizada c.b.p. 1000 ml
- c) Gel Pesar 2 g De Gel (Difco Agar Especial) y añadir 100 ml de agua destilada, mezclar y agregar 100 ml de Buffer

Preparación de las placas

Sobre una superficie y perfectamente nivelada, colocar los portaobjetos y con la solución de gel, lo suficientemente caliente para facilitar su aplicación. Dejar caer con una pipeta y partiendo del centro de la placa 2.5 ml de gel, teniendo cuidado de que su distribución en placa sea uniforme.

Una vez solidificado el gel, acomodar las placas en una caja de plástico en cuya base se ha colocado una gasa húmeda para evitar la desecación de gel. Conservarlas en refrigeración un mínimo de una hora hasta el momento de su uso, las placas pueden almacenarse en estas condiciones aproximadamente durante un mes. También se pueden almacenar en el refrigerador tubos de ensayo conteniendo 7 ml de gel (c), para ser utilizados en el momento en que se requieran, licuándolos por calentamiento y aplicando el gel sobre las laminillas portaobjetos como se indica al principio de este apartado.

Procedimiento:

a) Colocar en uno de los compartimientos laterales de la cámara de electroforesis 100 ml de Buffer a)

b) Colocar los puentes de papel filtro u otro material absorbente adecuado en los compartimientos laterales.

c) Preparar el extracto de muestra o muestras problema, suspendiéndolas un mínimo de 5 minutos en el buffer b)

d) Colocar muestras problema, antisuero y testigo, como se ilustra a continuación, colocando en cada horadación de 8 a 10 lambdas.

e) Una vez aplicadas las muestras contra su antisuero específico, se coloca la placa en la cámara de electroforesis, poniendo especial atención en que la polaridad sea la correcta.

f) Trabajar a 150 V. durante 45 minutos.

g) Interpretación:

Una vez terminado el periodo de corrimiento programado, observar y en caso positivo las bandas de precipitación se harán visibles en la zona comprendida entre el antígeno y el anticuerpo. (Carreño, 2006)

2.2.7 INMUNOENSAYOS

Inmunoensayo es un conjunto de técnicas inmunoquímicas analíticas de laboratorio que tienen en común el usar complejos inmunes, es decir los resultantes de la conjugación de anticuerpos y antígenos, como referencias de cuantificación de un analito (sustancia objeto de análisis) determinado, que puede ser el anticuerpo (Ac) o un antígeno (Ag), usando para la medición una molécula como marcador que hace parte de la reacción con el complejo inmune en la prueba o ensayo químico.

La técnica se basan en la gran especificidad y afinidad de los anticuerpos por sus antígenos específicos y se usan los anticuerpos monoclonales (obtenidos en el laboratorio) o de sueros policlonales (obtenidos de animales), siendo más específicos los monoclonales.

Su gran sensibilidad y especificidad permite la cuantificación de compuestos presentes en líquidos orgánicos en concentración reducida, del orden de nanogramos/ml o de picogramos/ml.

El desarrollo del inmunoensayo ha tenido gran impacto en el campo del diagnóstico médico mediante pruebas de laboratorio o química clínica.

TIPOS DE INMUNOENSAYOS

Por la técnica de medición

- **Competitivo:** el Antígeno (Ag) objeto de la medición compite con un antígeno marcado por un anticuerpo (Ac). Se mide por la cantidad del antígeno marcado sin conjugar que se considera es inversamente proporcional al analito.
- **No competitivo** (llamado también tipo sándwich): el Ag de la muestra reacciona con dos Ac diferentes que se fijan a distintas partes del Ag.

Uno de los Ac generalmente está en soporte sólido para facilitar la separación de la fracción ligada, y el otro Ac lleva la marca. Se mide por la cantidad del marcador considerando que es directamente proporcional a la cantidad del analito.

Por el medio donde se realiza la medición

- **Homogéneo:** En este tipo de ensayo la señal generada por la unión del antígeno y el anticuerpo se mide directamente en el mismo medio que se utiliza para favorecer la formación del complejo inmune.
- **Heterogéneo:** En este tipo de ensayo la señal generada por la unión del antígeno y el anticuerpo se mide en un medio diferente que el utilizado para la unión del complejo inmune, generalmente implican una etapa intermedia de lavado para eliminar interferencias.

Se considera que los inmunoensayos con formato homogéneo no competitivo son los más sensibles y específicos.

Por el marcador

- **Radioinmunoensayo (RIA):** el marcador es un isótopo radioactivo.
- **Enzimoimmunoanálisis (EIA):** el marcador es una enzima como por ejemplo la técnica de enzimoimmunoensayo conocido por su abreviatura ELISA.
- **Fluoroimmunoanálisis:** el marcador es una molécula fluorescente, por ejemplo FPIA.
- **Ensayo Inmunoquimioluminiscente:** la marca es en general una enzima capaz de catalizar una reacción quimioluminiscente. Son tanto o más sensibles que los radioinmunoensayos, y no presentan riesgos de manipulación de sustancias radioactivas. En contraposición están poco desarrollados y no siempre es posible aplicarlos. (Marcel, 2014)

PRINCIPIO DE ENSAYOS INMUNOCROMATOGRAFICOS

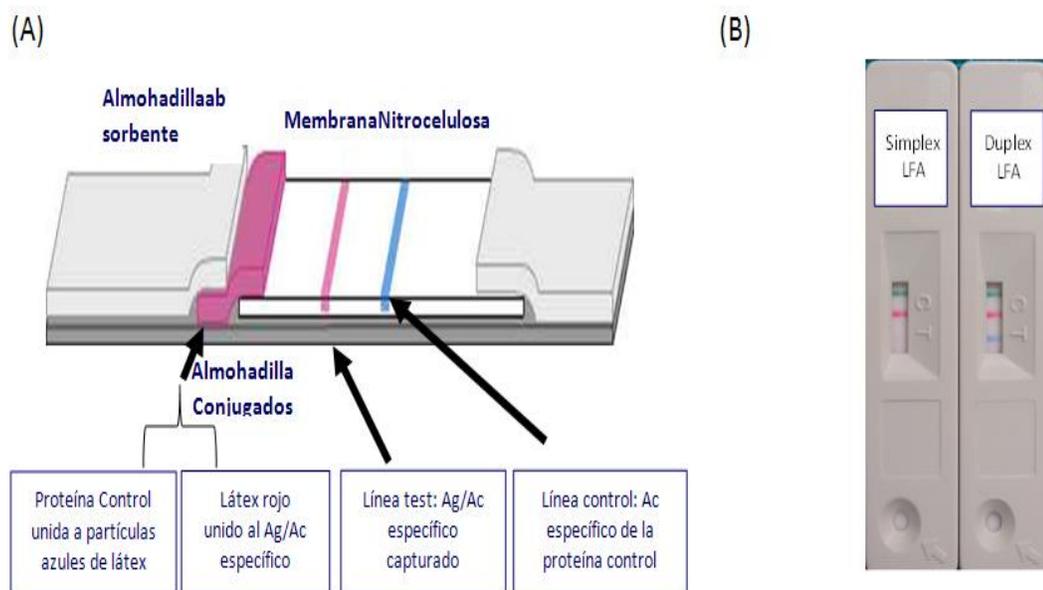


Figura 37 Ensayo Inmunocromatográfico
Fuente: <http://arbor.revistas.csic.es/index.php/arbor/article/viewArticle/1956/2284>

La inmunocromatografía se basa en la migración de una muestra a través de una membrana de nitrocelulosa. La muestra es añadida en la zona del conjugado, el cual está formado por un anticuerpo específico contra uno de los epítopos del antígeno a detectar y un reactivo de detección.

Si la muestra contiene el antígeno a problema, éste se unirá al conjugado formando un complejo inmune y migrará a través de la membrana de nitrocelulosa. Sino, migrarán el conjugado y la muestra sin unirse.

La zona de captura está formada por un segundo anticuerpo específico contra otro epítipo del antígeno.

Al llegar la muestra a esta zona, los complejos formados por la unión del antígeno y conjugado quedarán retenidos y la línea se coloreará (muestras positivas).

En el caso contrario las muestras son negativas. La zona control está formada por un tercer anticuerpo que reconoce al reactivo de detección.

Cuando el resto de muestra alcanza esta zona, el anticuerpo se unirá al conjugado libre que no ha quedado retenido en la zona de captura.

Esta línea es un control de que el ensayo ha funcionado bien, porque se colorea siempre, con muestras positivas y negativas.

ANTÍGENO.- se denomina antígeno a cualquier agente extraño que al entrar en el organismo desencadena la producción de anticuerpos específicos contra él. Un antígeno es una molécula capaz de producir una respuesta del sistema inmune adaptativo mediante la activación de linfocitos.

Esta definición amplía el concepto de antígeno más allá del concepto clásico que definía antígeno como la sustancia que desencadena la producción de anticuerpos.

Así dentro de esta definición de antígeno se incluyen las moléculas que, previa presentación antigénica, son capaces de desencadenar la activación de células T citotóxicas capaces de destruir las células diana sin la participación de anticuerpos. (Medicina Molecular, 2008)

La mayoría de los antígenos son de naturaleza peptídica, aunque también pueden actuar como antígenos moléculas de distintos tipos como lipopolisacáridos e incluso ADN.

Los antígenos pueden ser moléculas enteras pero generalmente son el resultado del procesamiento por células presentadoras de antígenos.

A las regiones específicas de los antígenos que son reconocidas por los anticuerpos o por los receptores de células T (TCRs) se les conoce como epítopos o determinantes antigénicos.

Los anticuerpos reconocen epítomos conformacionales que deben ser accesibles en la proteína original.

Los TCR reconocen la estructura que adopta un antígeno, ya procesado, dentro de la binding-groove de las moléculas MHC. En el proceso de presentación antigénica las células presentadoras de antígeno procesan y presentan tanto proteínas propias como extrañas a las células T.

A los péptidos propios que son reconocidos como extraños por el sistema inmune se les llama autoantígenos. La respuesta descontrolada frente a autoantígenos puede ocasionar procesos patológicos.

Los antígenos suelen ser moléculas grandes que se hallan formando parte de las estructuras superficiales de los microorganismos (cápsula o pared bacteriana, envoltura o cápside de los virus, etc.) o de las toxinas que éstos segregan en el medio interno.

Para cada antígeno que puede entrar en el organismo, existen linfocitos B capaces de reconocerlo y de sintetizar proteínas que se unen específicamente al antígeno con el fin de desactivarlo. (Medicina Molecular, 2008)

Estas proteínas se denominan anticuerpos.

ANTICUERPO.- los anticuerpos son proteínas globulares que se designan también como inmunoglobulinas (Ig). Son proteínas que sintetizan nuestro sistema inmunitario para defendernos de bacterias, virus, hongos... y otros parásitos que infectan nuestro organismo.

Los anticuerpos son generalmente formados por unas células de la sangre que se llaman linfocitos B.

Todos los anticuerpos se generan reconociendo alguna proteína específica de estos microorganismos que nos invaden.

La proteína que reconoce el anticuerpo se denomina antígenos.

Las vacunas sirven para que nuestro organismo genere anticuerpos contra un microorganismo específico.

Para ello la vacuna contiene antígenos de ese microorganismo que al ser inyectados en nuestro cuerpo nuestros linfocitos B generarán anticuerpos contra esos antígenos, y de esta forma estamos preparados para repeler una infección cuando el microorganismo invada nuestro cuerpo.

Hay **cinco clases** que se diferencian por su composición y función biológica: Ig G, Ig M, Ig A, Ig D, Ig E.

En todas ellas existe la misma unidad estructural que está formada por cuatro cadenas de aminoácidos, dos son largas y pesadas ("cadenas H", del inglés heavy=pesado) y otras dos más cortas y ligeras ("cadenas L", del inglés light=ligero).

Estas cuatro cadenas se unen entre sí, adoptando en conjunto la forma de una Y; algunos de los enlaces son puentes disulfuro (-S-S-).

Dentro de cada clase de inmunoglobulinas, todas las moléculas tienen una región constante, cuya secuencia de aminoácidos es igual para todas ellas, y dos regiones variables localizadas en los extremos de los brazos de la Y.

Las regiones variables constituyen los centros de unión del anticuerpo con el antígeno; cada anticuerpo sólo actuará sobre los antígenos que puedan establecer enlaces con los aminoácidos de esas regiones.

Por tanto, la unión **antígeno anticuerpo** es específica. Al unirse el antígeno con las moléculas del anticuerpo específico, se desencadena una reacción antígeno-anticuerpo que puede ser de distintos tipos:

REACCIÓN DE AGLUTINACIÓN

Puede ocurrir cuando las moléculas de antígeno se hallan en la superficie de células extrañas al organismo.

A cada célula se fijan varios anticuerpos, cada uno de los cuales establece, a su vez, enlace con otra célula.

El resultado es un entramado de complejos antígeno anticuerpo que será fácilmente reconocido y destruido por los fagocitos.

Esta reacción también se puede producir con los virus. Este tipo de reacción es la que se produce en una persona cuando recibe sangre de un grupo distinto al suyo: los glóbulos rojos del donante son aglutinados por anticuerpos presentes en la sangre del receptor.

REACCIÓN DE NEUTRALIZACIÓN

Los anticuerpos al unirse a los antígenos bloquean su entrada en las células del organismo, impidiendo así su actuación.

REACCIÓN DE PRECIPITACIÓN

Los antígenos se hallan disueltos en la sangre, (toxinas bacterianas) y al unirse con el anticuerpo forman complejos insolubles que precipitan y que serán posteriormente fagocitados.

OPSONIZACIÓN

Consiste en que la superficie de las bacterias u otros gérmenes patógenos es recubierta por anticuerpos; la región constante de cada anticuerpo se fija a receptores presentes en la membrana de los fagocitos, con lo que se facilita la captura y destrucción del germen invasor.

Sin embargo, una de las funciones principales de los anticuerpos es la activación del sistema de complemento. (Pregunta al Médico, 2013)

2.2.8 SISTEMA ESPECIALIZADO INTEGRAL DE INVESTIGACIÓN EN MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES.



Figura 38 Centro de Investigación de Ciencias Forenses Tungurahua
Fuente: <http://extra.ec/ediciones/2013/07/23/provincias/centro-de-investigaciones-forenses-para-ambato/>

Los servicios que presta el Sistema Especializado Integral de Investigación, de Medicina Legal y Ciencias Forenses como auxiliar directo de la justicia, desempeñan un papel fundamental en la investigación técnico científica de los delitos. De la capacidad de dilucidar la verdad de los hechos constitutivos del delito depende la calidad de las intervenciones especializadas e informes que se emiten. En este sentido, la labor que desempeñamos los laboratoristas, resulta de gran valía para la administración de justicia.

Por ello, entre los compromisos de los Laboratorios del Sistema se encuentran los de promover la investigación, la excelencia en el trabajo encomendado a los peritos y la actualización permanente del conocimiento técnico científico. (AREA DE CIENCIAS FORENSES, s.f.)

ACREDITACIÓN DE PERITOS

El Perito Forense es un experto que posee una formación práctica-teórica en el área judicial y procesal.

Está capacitado para auxiliar técnica y científicamente la investigación judicial en áreas como la búsqueda y análisis de la información, evaluación, fijación, levantamiento e interpretación de cualquier tipo de evidencia. Posee la habilidad para el tratamiento de la evidencia en la cadena de custodia. (PERITOS, 2011)

REQUISITOS PARA CALIFICAR COMO PERITOS

Las personas que deseen calificarse como peritos de la Función Judicial, deben cumplir con los siguientes requisitos:

1. Ser mayores de edad, ser capaces y estar en ejercicio de sus derechos de participación.
2. Ser conocedoras o conocedores y/o expertas o expertos en la profesión, arte, oficio, o actividad para la cual soliciten calificarse.
3. En el caso de profesionales, tener al menos dos años de graduadas o graduados la fecha de la solicitud de calificación, y cumplir con los requisitos de experiencia establecidos.

Para las y los demás expertos tener al menos dos años de práctica y experiencia a la fecha de la solicitud de calificación, en el oficio, arte o actividad en la cual tengan interés de calificarse.

4. También se podrán presentar, para justificar la experticia y conocimiento de la o el solicitante, hasta diez informes periciales realizados en los últimos dos años, los cuales serán analizados por el Consejo de la Judicatura para determinar si acreditan experticia.

5. No hallarse incursas o incursos en as inhabilidades o prohibiciones para ser calificada o calificado como perito previstas en la ley y este reglamento. (JUDICATURA, ACREDITACIÓN DE PERITOS, 2014)

AREA DE HISTOPATOLOGÍA FORENSE

En el área de Histopatología Forense integra los procedimientos para el ejercicio de toma de muestras y análisis histopatológico a emplearse para determinar la naturaleza de la patología en un tejido.

Se realiza en el Laboratorio de Histopatología del Sistema Especializado Integral de Investigación, Medicina Legal y Ciencias Forenses.

Dada su naturaleza, el estudio histopatológico de un órgano o tejido debe efectuarse observando un método técnico.

Estableciéndose criterios de manejo desde la obtención de la muestra hasta la entrega del resultado por el médico forense a la autoridad competente.



Figura 39: Área de Histopatología Forense

Fuente: <http://www.fiscalia.gob.ec/index.php/sala-de-prensa/15-fiscalias-provinciales/4378-el-centro-forense,-uno-de-los-mayores-aportes-para-la-ciudadan%C3%ADa-de-el-oro.html>

Cumpliendo el protocolo de preparación, conservación, identificación, traslado y recepción, que culmina con la elaboración de un informe pericial.

Este informe siempre dentro de los parámetros requeridos por el especialista o de la autoridad competente, dentro de una investigación penal.

La puesta en vigor del sistema acusatorio, que se sustenta en la oralidad tiende a abordar la transparencia del procedimiento y contribuye a que sea más ágil y sencillo.

En el esquema procesal penal el valor probatorio de los indicios, es de vital importancia. Un adecuado manejo del lugar de los hechos o escena del delito garantiza el éxito de la investigación.

Obtención de la Muestra.

La toma de muestra de tejidos, es responsabilidad del Perito Médico Legista como consta en el Artículo 461 literal 3 del Código Orgánico Integral Penal.

Así como la solicitud del examen con su respectiva cadena de custodia y copia del protocolo de autopsia en caso que se requiera.

Cumpliendo con estos requisitos el laboratorio de Histopatología conservara el código del caso recibido.

Y por ende asignara un nuevo número de registro interno del Laboratorio que comenzará por el 001 el 01 de enero de cada año. (MANUAL DE HISTOPATOLOGIA FORENSE, s.f.)

AREA DE QUÍMICA Y TOXICOLOGÍA FORENSE

Todo indicio, muestra o evidencia se receptorá observando la respectiva Cadena de Custodia. El perito designado para la práctica de la pericia sobre evidencias, procederá a revisar la integridad de los sellos del embalaje de la evidencia.



Figura 40: Área de Química y Toxicología Forense

Fuente: <http://www.fiscalia.gob.ec/index.php/sala-de-prensa/15-fiscalias-provinciales/4378-el-centro-forense,-uno-de-los-mayores-aportes-para-la-ciudadan%C3%ADa-de-el-oro.html>

El rotulado debe detallar la siguiente información:

- Número del expediente y la fase pre-procesal o etapa procesal.
- Número de caso policial.
- Nombre de procesado (de haberlo).
- Número de muestras.
- Detalle de la muestra. Cantidades requeridas de muestra para análisis químico:
 - Muestras sólidas: máximo un gramo de muestra representativa homogénea del decomiso, mismas que deben enviarse en fundas plásticas nuevas de cierre hermético.
 - Muestras líquidas para investigación de drogas, para análisis cualitativo: de 1 a 10 ml de muestra representativa homogénea del decomiso.

- Muestras líquidas, para investigación de drogas para análisis cuantitativo: mínimo 10 ml de muestra representativa homogénea del decomiso.
- Muestras líquidas para investigación de insumos: 100 ml de muestra representativa homogénea del decomiso. Toda muestra líquida se enviará al Laboratorio en recipientes plásticos con tapa tipo rosca y contratapa (tapón).
- Material Vegetal: mínimo un gramo de hoja seca, embaladas en funda de papel.

Parámetros para aceptación de muestra:

- Muestras debidamente embaladas que eviten derrames y pérdida.
- Muestras debidamente rotuladas con letra legible y con tinta indeleble.
- Envases herméticamente sellados
- Datos del rotulado, en concordancia con el documento de cadena de custodia y oficios de solicitud de pericia.
- Muestras no apiladas, con embalaje individualizado.

En la hoja de Cadena de Custodia, se hará constar si los sellos, rotulación y embalaje no presentan signos de manipulación o alteración.

Además de los datos correspondientes y firma de responsabilidad, para su posterior traslado hasta la sección correspondiente.

Recibida la evidencia, se verificará la integridad de los sellos, procediendo a la apertura de envase que lo contenga por el borde contrario a las seguridades, dando inicio al estudio pericial solicitado por la autoridad.

Una vez realizada la experticia, se embalará la evidencia con los respectivos sellos de seguridad y número de pericia química.

Tipo de muestra o indicio:	
Contenido:	
Fecha de recolección: (día/mes/año)	Hora que se toma la muestra: (00h hasta 24h)
Lugar donde se recogió la muestra:	
Noticia Técnica N°:	Informe N°:
Apellidos y nombres de la persona que toma la muestra:	Firma y N° de CC:
N° de celular de la persona que toma la muestra:	
Apellidos y nombres de la persona que chequea la muestra:	Firma y N° de CC:
N° de celular de la persona que chequea la muestra:	
Observaciones: (condiciones especiales de manejo, transporte o almacenamiento para evitar para evitar su deterioro o alteración)	

Figura 41: Etiquetado de muestras

Fuente: <http://criminalistica.mx/descargas/documentos/pdf/TecnicasHematologiaForense.pdf>

Mientras que el remanente se conservará en el laboratorio con un tiempo máximo de 2 años, o hasta que la autoridad lo disponga. (MANUAL DE QUIMICA Y TOXICOLOGÍA FORENSE, s.f.)

AREA DE TANATOLOGÍA

Se define Necropsia Médico legal como el examen externo e interno de un cadáver. Este examen se debe ser realizado por un médico que aplica las técnicas y procedimientos de la Anatomía Patológica internacionalmente aceptados para estudio de un caso en que se investiga judicialmente una muerte.

La aplicación de tales técnicas y procedimientos está indicada para satisfacer los requerimientos de la investigación.

Sobre todo al sustentar adecuadamente los hallazgos y su opinión de manera escrita y/o verbal frente a Fiscales y Jueces en el curso de una audiencia u otra diligencia del Proceso Penal.



Figura 42: Área de Tanatología

Fuente: <http://www.metroecuador.com.ec/noticias/centros-de-investigacion-de-ciencias-forenses-funcionan-en-el-pais/AzUnhs---40zdpF8gJ3cKs/>

El marco legal vigente para la práctica de estas necropsias está contenido en el Decreto 786 de 1990 y los estándares institucionales corresponden al Manual de Patología Forense. Antes de abordar la necropsia es indispensable que el médico forense tenga conocimiento de toda la información disponible del occiso.

Además de que es indispensable acceder a documentos técnicos de utilidad práctica antes de realizar la necropsia tales como fotos, croquis, diagramas y planos de la escena, declaraciones de testigos, historias clínicas, etc.

El análisis de esta información por parte del perito al iniciar la necropsia es fundamental, no solo para abordarla adecuadamente sino para realizar una correcta interpretación y correlacionarla con los hallazgos en la necropsia que oriente a la autoridad en la investigación de la muerte.

La autoridad debe por lo tanto proveerla lo más pronto posible antes de iniciar la necropsia. Sin embargo, dadas las limitaciones que aún tenemos en el

trabajo técnico de la investigación sobre la recopilación de los datos técnicos de los occisos y del estudio de la escena, es probable que la información recopilada no sea completa y adecuada.

A criterio del perito y si las condiciones del caso en particular lo permiten y lo requieren, puede tener libre acceso a información por parte de los familiares del fallecido de manera espontánea o por entrevista.

El perito debe contextualizar el análisis y la interpretación de sus hallazgos teniendo como referencia toda la información disponible.

Esto es la que le aporta la autoridad, los familiares y los resultados de exámenes complementarios en cuanto esto sea posible y registrar lo pertinente en el protocolo de necropsia.

Este análisis integral permitirá a quien requiera consultar el protocolo de necropsia tener una idea precisa del caso y entender el análisis y las opiniones presentadas por el perito. Para ello, puede incluir en el Protocolo de necropsia un resumen de la información que considere útil para informar sobre el contexto del caso.

Además de la Hipótesis sobre Manera y Causa de la Muerte a que llegó la autoridad - a partir del estudio de la(s) escena(s), los resultados de la indagación preliminar y las entrevistas a testigos- como criterio para definir la metodología de abordaje del caso. (MANUAL DE TANATOLOGÍA, s.f.)

AREA DE BIOLOGÍA FORENSE

Con la finalidad de colaborar con el Sistema Especializado Integral de Investigación de Medicina Legal y Ciencias Forenses se ha creado el presente manual el cual servirá como guía al personal inmerso en el área.

Los servicios periciales que presta el Sistema Especializado Integral de Investigación, de Medicina Legal y Ciencias Forenses como auxiliar directo de

la justicia, desempeñan un papel fundamental en la investigación técnico científica de los delitos.

De la capacidad de dilucidar la verdad de los hechos constitutivos del delito depende la calidad de las intervenciones especializadas e informes que se emiten.



Figura 43 Área de Biología Forense

Fuente: <http://extra.ec/ediciones/2013/07/23/provincias/centro-de-investigaciones-forenses-para-ambato/>

En este sentido, la labor que desempeñan, resulta de gran valía para la administración de justicia.

Por ello, entre los compromisos de los Laboratorios del Sistema se encuentran los de promover la investigación, la excelencia en el trabajo encomendado a los peritos y la actualización permanente del conocimiento técnico científico.

La Biología Forense se ocupa de la colección, identificación y estudio de indicios biológicos que pueden funcionar como evidencia en materias legales, coadyuvando con la justicia en la resolución de casos.

El Análisis e interpretación de las evidencias como: sangre, semen u otros fluidos corporales en la escena de un delito ayudan a resolver problemas judiciales y forenses.

Esta rama de la ciencia nos ayuda en el esclarecimiento de delitos relacionados con: homicidios, asesinatos, etc. utilizando pruebas que nos permiten procesar muestras de fluidos biológicos, cadáveres, armas, vehículos, etc.

Siendo estas técnicas utilizadas como pruebas de un delito en el campo judicial existe la necesidad de contar con información clara para la realización de los diferentes procedimientos que se realizan los laboratorios del Sistema Especializado Integral.

ALCANCE: El presente manual será aplicado en el Sistema Especializado Integral de Investigación, Medicina Legal y Ciencias Forenses, será utilizado por los peritos y personal que trabaja en el ámbito legal.

MARCO LEGAL

CONSTITUCIÓN DE LA REPUBLICA DEL ECUADOR

Art. 76, numeral 4, sobre las garantías básicas que aseguran el debido proceso establece: “Las pruebas obtenidas o actuadas con violación de la Constitución o la ley no tendrán validez alguna y carecerán de eficacia probatoria”.

Art. 169.- El sistema procesal es un medio para la realización de la justicia.

Las normas procesales consagrarán los principios de simplificación, uniformidad, eficacia, intermediación, celeridad y economía procesal, y harán efectivas las garantías del debido proceso.

No se sacrificará la justicia por la sola omisión de formalidades.

Art. 195, “la Fiscalía dirigirá de oficio o a petición de parte, la investigación preprocesal y procesal penal...la Fiscalía organizará y dirigirá un sistema especializado integral de investigación, de medicina legal y ciencias forenses”.

CÓDIGO ORGÁNICO INTEGRAL PENAL

Art 442.- La Fiscalía dirige la investigación pre-procesal y procesal penal e interviene hasta la finalización del proceso.

Art 443.- Atribuciones de la Fiscalía.-La Fiscalía ejerce las siguientes atribuciones:

1. Organizar y dirigir el Sistema especializado integral de investigación. de medicina legal y ciencias forenses.

Art. 444.- Atribuciones de la o el fiscal.- Son atribuciones de la o el fiscal, las siguientes:...

12. Ordenar el peritaje integral de todos los indicios que hayan sido levantados en la escena del hecho, garantizando la preservación y correcto manejo de las evidencias.

Art. 448.- Organización y Dirección:

En materia pre-procesal y procesal penal, la Fiscalía organizara y dirigirá el Sistema Especializado Integral de Investigación de Medicina Legal y Ciencias Forenses que presentara servicios especializados de apoyo técnico y científico a la administración de justicia.

El Sistema contara con el apoyo del organismo especializado de la Policía Nacional y personal civil de Investigación, quienes llevaran a cabo las diligencias necesarias para cumplir los fines previstos en este código, ejecutaran sus tareas bajo la dirección de la Fiscalía y dependerán administrativamente del ministerio del ramo.

Art. 450.- Informes o exámenes de las entidades públicas y privadas.- En el caso de localidades donde no se dispone de personal del Sistema especializado integral de la investigación, de medicina legal y ciencias forenses.

Con el fin de asegurar los vestigios, objetos e instrumentos, podrán intervenir, a solicitud de la o el fiscal, profesionales de centros de salud, clínicas u hospitales públicos acreditados por el Consejo de la Judicatura. En caso de no existir unidades de salud pública se podrá recurrir al sector privado acreditado por el Consejo de la Judicatura.

Estos establecimientos elaborarán los informes correspondientes en los que consten los nombres de los responsables de las entidades y de los profesionales que hayan realizado los exámenes, los mismos que serán entregados a la o al fiscal que los solicite.

Art. 456.- Cadena de custodia.-

Se aplicará cadena de custodia a los elementos físicos o contenido digital materia de prueba, para garantizar su autenticidad, acreditando su identidad y estado original. Las condiciones, las personas que intervienen en la recolección, envío, manejo, análisis y conservación de estos elementos y se incluirán los cambios hechos en ellos por cada custodio.

La cadena inicia en el lugar donde se obtiene, encuentra o recauda el elemento de prueba y finaliza por orden de la autoridad competente. Son responsables de su aplicación, el personal del Sistema especializado integral de investigación, de medicina legal y ciencias forenses.

El personal competente en materia de tránsito y todos los servidores públicos y particulares que tengan relación con estos elementos. Incluyendo el personal de servicios de salud que tengan contacto con elementos físico que puedan ser de utilidad en la investigación.

Art. 463.- Obtención de muestras.- Para la obtención de muestras de fluidos corporales, componentes orgánicos y genético-moleculares se seguirán las siguientes reglas:

1. No se podrá realizar pruebas de carácter biológico, extracciones de sangre, de objetos situados en el cuerpo u otras análogas, si se teme menoscabo en la salud y dignidad de la persona objeto de examen.

2. Cuando el examen deba realizarse en víctimas de infracción contra la integridad sexual o en una niña, niño o adolescente, se tomarán las medidas necesarias en función de su edad y género para precautelar su dignidad e integridad física y psicológica.

Los profesionales de la salud que realicen estos exámenes estarán obligados a conservar los elementos de prueba encontrados en condiciones de seguridad, que serán entregados inmediatamente al personal del Sistema especializado integral de investigación, de medicina legal y ciencias forenses. Los cuales deberán rendir testimonio anticipado o podrán ser receptados mediante video conferencias de acuerdo con las reglas del presente Código.

Art. 465.- Exámenes médicos y corporales.- Podrán efectuarse exámenes médicos o corporales de la persona procesada o de la víctima en caso de necesidad para constatar circunstancias relevantes para la investigación, de acuerdo con las siguientes reglas:

3. Una copia será entregada a la persona que ha sido sometida al reconocimiento o quien la tenga bajo su cuidado y la otra copia, así como las muestras obtenidas y los resultados de los análisis practicados.

Que serán remitidos dentro de las siguientes veinticuatro horas al personal del Sistema especializado integral de investigación, de medicina legal y ciencias forenses, el que informará inmediatamente a la o al fiscal, o la o al juzgador.

Art. 505.- Testimonio de peritos.-Los peritos sustentarán oralmente los resultados de sus peritajes y responderán al interrogatorio y al contrainterrogatorio de los sujetos procesales.

Art 511.- Reglas generales.- Las y los peritos deberán:

1. Ser profesionales expertos en el área, especialistas titulados o con conocimientos, experiencia o experticia en la materia y especialidad, acreditados por el Consejo de la Judicatura.
2. Desempeñar su función de manera obligatoria, para lo cual la o el perito será designado y notificado con el cargo.
3. La persona designada deberá excusarse si se halla en alguna de las causales establecidas en este Código para las o los juzgadores.
4. Las o los peritos no podrán ser recusados, sin embargo el informe no tendrá valor alguno si el perito que lo presenta, tiene motivo de inhabilidad o excusa, debidamente comprobada.
5. Presentar dentro del plazo señalado sus informes, aclarar o ampliar los mismos a pedido de los sujetos procesales.
6. El informe pericial deberá contener como mínimo el lugar y fecha de realización del peritaje, identificación del perito, descripción y estado de la persona u objeto peritado, la técnica utilizada, la fundamentación científica, ilustraciones gráficas cuando corresponda, las conclusiones y la firma.
7. Comparecer a la audiencia de juicio y sustentar de manera oral sus informes y contestar los interrogatorios de las partes, para lo cual podrán emplear cualquier medio.
8. El Consejo de la Judicatura organizara el sistema pericial a nivel nacional, el monto que se cobre por estas diligencias judiciales o procesales, podrán ser canceladas por el Consejo de la Judicatura.

De no existir persona acreditada como perito en determinadas áreas, se deberá contar con quien tenga conocimiento, especialidad, experticia o título que acredite su capacidad para desarrollar el peritaje. Para los casos de mala práctica profesional la o el fiscal solicitara una terna de profesionales con la especialidad correspondiente al organismo rector de la materia. Cuando en la investigación intervengan peritos internacionales, sus informes podrán ser incorporados como prueba, a través de testimonios anticipados o podrán ser receptados mediante video conferencias de acuerdo a las reglas del presente código.

PROCEDIMIENTO DE IDENTIFICACIÓN E INTEGRACIÓN DE PROCESOS.

1. La toma de muestras biológicas, es responsabilidad del Perito Médico Legista, y/o centros de salud públicos o privados acreditados como consta en el Artículo 465 del Código Orgánico Integral Penal, así como la solicitud análisis pericial a requerirse con su respectiva cadena de custodia.

Cumpliendo con estos requisitos el laboratorio de Biología conservara el código del caso recibido, y asignara un nuevo número de registro interno del Laboratorio que comenzará por el 001 el 01 de enero de cada año.

2. Recepción de las muestras biológicas adjuntas a solicitud de análisis pericial a requerirse, emitida por la Autoridad competente y/o Médico Legal

3. La solicitud de análisis biológico deberá llevar los siguientes datos:

- Nombres y Apellidos de usuario(a)
- Número de cédula (si lo hubiera)
- Copia del documento de identidad: Cédula, partida de nacimiento, licencia de conducir u otros (si los hubiere).
- Especificar el tipo de muestra (sangre, frotis vaginal, frotis anal, frotis bucal, etc.)

- Número de muestras.
- Especificar datos relevantes del caso (antecedente de agresión sexual, intervalo de tiempo en que ocurrió el hecho y el momento de tomar la muestra, uso de preservativo, aseo previo, atención médica previa, etc.)
- Número de expediente.
- Fecha de toma de muestra.
- Nombre del Médico Legista, y/o profesional que realiza la toma de muestra.

4. Verificar la rotulación de los contenedores de las muestras y la solicitud que contiene la cadena de custodia.

Si es correcta se procederá a la revisión del contenido.

5. Los datos obtenidos en el formato físico, serán registrados además, en un soporte digital, conforme lo dispuesto en el Código Orgánico Integral Penal

6. Se realiza el registro fotográfico de las muestras

7. Procesamiento de muestras en el Laboratorio.

8. Elaboración, revisión y corrección del informe pericial que será entregado a la autoridad solicitante.

- Se anexa al expediente:
- Copia de las Cadenas de Custodia y del documento de identidad (copia de la credencial o cédula de ciudadanía) del custodio de las evidencias.

9. Impresión de dos originales del informe técnico o pericial.

Uno de las cuales será entregado al archivo general y la otra será enviado a través del personal administrativo, al Señor(a) Fiscal que avoca conocimiento del caso. De ser el caso en un informe técnico se entregará directamente al Médico Legista.

FORMATO DE FORMULARIO PARA SOLICITUD DE ANALISIS BIOLÓGICO

Reconocimiento médico legal Autopsia Exhumación

NOMBRES: _____

EDAD: _____

Se solicita el estudio de: **FLAGRANCIA:** NO

INVESTIGACION DE RESTOS DE SEMEN PRUEBA DE EMBARAZO

DETERMINACION DE SANGRE

DETERMINACION DE PROTEINA P30

BUSQUEDA DE ESPERMATOZOIDES

DETERMINACION DE ORINA

OTROS: _____ **DETERMINACION DE SALIVA**

Objetivo de la investigación

Antecedentes y datos de interés. (detallar si se conoce fecha de los hechos, antigüedad/conservación de las muestras)

Figura 44 Formato de Formulario para solicitud de Análisis biológico

Fuente:

http://www.fiscalia.gob.ec/files/archivos%20AC/COIP%20073%20FGE/Area%20Ciencias%20Forenses/6__Manual_de_Procedimientos_de_laboratorio_de_Biologa_Forense.pdf

10. De haberse consumido toda la muestra durante el análisis se comunicara en el informe pericial. (MANUAL DEL LABORATORIO DE BIOLOGIA FORENSE, s.f.)

NOTA: Es importante realizar el análisis de muestras biológicas dentro de las 72 horas, de haber obtenido la muestra, para evitar degradación y contaminación de las mismas.

LUCES FORENSES: El equipo de luces forenses permite la visualización de manchas de sangre, semen, orina y otros fluidos cuando no pueden verse a simple vista, ya sea por la obscuridad o porque dichos fluidos hubiesen sido limpiados intencionalmente con el fin de no dejar pistas.

Junto al equipo de luces forenses se utilizan reactivos y luces de nueve colores que se eligen dependiendo la sustancia buscada. Estas luces son susceptibles de usarse sobre superficie de distinta naturaleza, y para citar algunos ejemplos tan solo mencionaremos los más comunes como son vidrios, automóviles, paredes, tela, pisos, lona, tierra, piedras, incluso en campo abierto. Estas mismas luces se pueden utilizar sobre el cuerpo humano en la búsqueda de restos de algún fluido, o marcas producidas por el sujeto activo del delito. (LÓPEZ, 2008)

Una fuente de luz forense se compone de una lámpara de gran alcance que contiene los componentes ultravioletas, visibles e infrarrojos de la luz. Todos los materiales orgánicos pueden despedir luz fluorescente (absorba la luz), en una longitud de onda, por ejemplo, iluminado una huella digital que es invisible al ojo desnudo, con la luz azul verde intensa. La impresión que despedirá será luz fluorescente amarillo y que llegará a ser claramente visible sin el uso de polvos o los tintes.

El mismo procedimiento se puede utilizar para identificar otros elementos de rastro incluyendo semen, saliva, tintas y fibras. Puesto que realizan la

visualización de la evidencia por las técnicas ligeras de la interacción incluyendo fluorescencia (la evidencia brilla intensamente), absorción (La evidencia oscurece), e iluminación oblicua (evidencia de la partícula pequeña revelada). (VELASQUEZ, 2012)

La fluorescencia es la propiedad de una sustancia para emitir luz cuando es expuesta a radiaciones de tipo UV, rayos catódicos o rayos X. Las radiaciones absorbidas (invisibles al ojo humano), son transformadas en luz visible. La luz puede ser apreciada mientras la superficie es irradiada con la fuente de luz. El espectro de excitación de las muestras de semen tiene longitudes de onda que van de 350 nm (Luz UV) a 500 nm (Luz Azul-verde). (ASECRIMF, 2011)

2.2.9 DETERMINACIÓN FORENSE DE SANGRE HUMANA.

INTRODUCCION

Esta prueba es la más utilizada para determinaciones Forenses de Sangre Humana ya que se basa en la detección cualitativa para la identificación de sangre humana, mediante reacción antígeno – anticuerpo, técnica de inmunocromatografía.



Figura 45 Determinación de sangre Humana
Fuente: Centro de Investigación de Ciencias Forenses Tungurahua

MUESTRA REQUERIDA

Las muestras y evidencias en las que se determina la presencia de sangre humana son:

- Frotis de hisopados de maculas
- Máculas sobre objetos sólidos transportables y no transportables

PROCEDIMIENTO

MATERIALES DE MANCHAS DE SANGRE FRESCA

1. Identificar la zona en donde existe fluorescencia para determinar la ubicación del supuesto fluido biológico.
- 2.- Cortar entre 3 a 5mm² de la mácula fresca y sumergir por 5 minutos en el volumen completo del buffer en el tubo de extracción del kit.
- 3.- Asegurar que la tapa está cerrada y entonces mescle el contenido gentilmente el contenido en el tubo por 10 segundos o más sin formar espuma.
- 4.- El extracto de la muestra se utiliza para la prueba.
- 5.- Remover la tarjeta del paquete sellado.
- 6.- Marcar la tarjeta con el número de caso.
- 7.- Adicionar de 4 – 5 gotas con gotero o 150 ul de la muestra al pocillo (S) de la tarjeta.
- 8.- Leer los resultados a los 10 minutos.

MATERIALES DE MANCHAS VIEJAS ALMACENADAS POR MAS DE 5 AÑOS

Para materiales de manchas viejas que han sido almacenados a temperatura ambiente sobre 5 años (incluyendo manchas viejas lavadas o hisopos viejos) seguir los siguientes pasos:

- 1.- Observar el soporte solido en la luz forense.
2. Identificar la zona en donde existe fluorescencia para determinar la ubicación del supuesto fluido biológico.
- 3.- Cortar entre 3 a 5mm² de la mácula fresca y sumergir por 5 minutos en el volumen completo del buffer en el tubo de extracción del kit.
- 4.- Asegurar que la tapa está cerrada y entonces mescle el contenido gentilmente el contenido en el tubo por 10 segundos o más sin formar espuma, y dejar a temperatura ambiente por al menos 30 minutos.
- 5.- Remover la tarjeta del paquete sellado.
- 6.- Marcar la tarjeta con el número de caso.
- 7.- Adicionar de 4 – 5 gotas con gotero o 150 ul de la muestra al pocillo (S) de la tarjeta.
- 8.- Leer los resultados a los 10 minutos.



Figura 46 Determinación de sangre Humana en manchas viejas
Fuente: Centro de Investigación de Ciencias Forenses Tungurahua

Si los procedimientos de arriba no proporcionan resultados y existe una sospecha fuerte de la presencia de sangre humana, se debe proceder de la siguiente manera:

- 1.- Observar el soporte solido en la luz forense.
2. Identificar la zona en donde existe fluorescencia para determinar la ubicación del supuesto fluido biológico.
- 3.- Sumergir la mancha de sangre vieja en 2-3 gotas de amonio al 5% por 2-5 minutos para extraer la hemoglobina.
- 4.- Permitir la evaporación del amonio.
- 5.- Sumergir la mancha en el buffer de extracción por 5 minutos el pH de la muestra debe estar entre 1-9.
- 6.- El pH debe ser verificado con un papel de pH en un tubo de extracción. No usar gel de hidróxido de sodio para ajustar el pH.
- 7.- Utilizar el extracto para la prueba
- 8.- Remover la tarjeta del paquete sellado.
- 9.- Marcar la tarjeta con el número de caso.
- 10.- Adicionar de 4 – 5 gotas con gotero o 150 ul de la muestra al pocillo (S) de la tarjeta.
- 11.- Leer los resultados a los 10 minutos

CONTROL DE CALIDAD

La línea control en el área de control “C” puede ser considerada un control interno del procedimiento. Otra línea rosada aparecerá siempre si la prueba se ha desarrollado correctamente.



Figura 47 Control Positivo y Negativo para Sangre Humana
Fuente: Centro de Investigación de Ciencias Forenses Tungurahua

Si la línea de control “C” no aparece la prueba es inválida y un nuevo test debe ser desarrollado siguiendo los correctos procedimientos. Se podría realizar un test de control de calidad usando estándares de controles positivo y negativo. Así como también podríamos realizar controles de calidad de nuestros casetes utilizando muestras conocidas.

RESULTADOS

POSITIVO: Si existen dos líneas rosadas, una en el área “T” de la prueba y otra en el área control “C”, el resultado de la prueba es positivo e indica que los niveles de HbH están sobre 0,05 ug/ml.

NEGATIVO: Si existe una línea rosada en el área de control “C” de la prueba el resultado es negativo. Esto puede indicar que:

- a) Hb-Humana no está presente sobre 0,05 ug/ml.
- b) Presencia de efecto prozona que podría dar un resultado falso negativo debido a la presencia de altas concentraciones de Hb-Humana en la muestra,

como por ejemplo sangre no diluida. En este caso la muestra de ser ensayada nuevamente usando una dilución 1:10, 1:100

INVALIDO:

Si no existe línea rosada visible en el área de control “C” la prueba no es concluyente. Repetir la prueba y examinar el procedimiento cuidadosamente. (MANUAL DEL LABORATORIO DE BIOLOGIA FORENSE, s.f.)

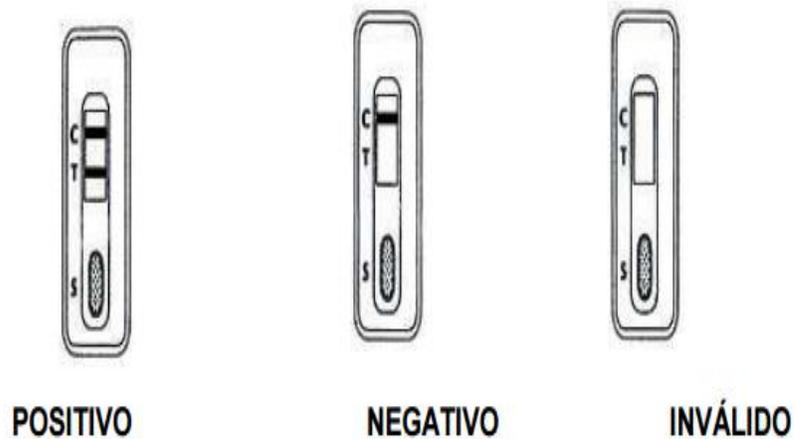


Figura 48: Resultados de la Prueba de Sangre Humana
Fuente:

http://www.fiscalia.gob.ec/files/archivos%20AC/COIP%20073%20FGE/Area%20Ciencias%20Forenses/6__Manual_de_Procedimientos_de_laboratorio_de_Biologa_Forense.pdf

2.3 DEFINICIÓN DE TERMINOS BÁSICOS

Análisis.- Estudio técnico - científico a los indicios.

Embalaje.- Maniobra fundamental en el lugar de los hechos para proteger los indicios y/o evidencias durante el transporte al centro de acopio o almacén de evidencias.

Evidencia.- Todo que ha sido usado, abandonado, dejado, quitado, cambiado o contaminado durante la comisión de un delito, sea por el sospechoso o la víctima. Certeza clara y manifiesta de una cosa.

Indicio.- Fenómeno que permite conocer o inferir la obtención de la prueba.

Experticia.- Término asignado al examen o trabajo pericial.

Integridad.- Elemento físico o digital completo que ha sido recolectado en la escena del delito, manteniendo las mismas cualidades que al momento de su recolección

Levantamiento.- Maniobra técnica desarrollada en el lugar de los hechos con el fin de aprehender los indicios y/o evidencias sin que se afecte su forma, estructura o cantidad

Rotulado.- Operación técnica en la que se hace constar todos los datos técnicos, información y características de una evidencia determinada, de una manera detallada, generalmente en una tarjeta o adhesivo.

Traslado.- Es el movimiento que se hace de los elementos físicos materia de prueba de un sitio a otro.

Código: es una sistematización interna alfa numérica que se da a cada caso, con el fin de individualizarlo.

Lugar de los hechos: lugar donde se ha producido un determinado hecho delictivo.

Muestra de referencia: material de una fuente verificable documentada que, al comprarse con muestras de una fuente desconocida, muestra una asociación o vinculación entre un delincuente, un escenario de un delito o una víctima.

Prueba: se expresó anteriormente que “probar era demostrar la verdad de algo”, consecuentemente una prueba es un medio idóneo que permite al Juez llegar a la certeza o convicción que un hecho se ajusta a la verdad; por ejemplo una necropsia lleva a cabo a una persona, llevara a la convicción al juez sobre la verdad de su muerte y las causas de tal deceso.

Confesión: Aceptación por parte de una o varias personas sobre la responsabilidad de un hecho que fue la reina de las pruebas en el pasado, sobre todo cuando prevalecía el sistema procesal inquisitivo, donde por las responsabilidades de `probar los hechos de la otra manera, se recurrirá a la tortura para lograr el reconocimiento muchas veces contrario a la verdad de la culpabilidad interrogando, en conocimiento del sistema procesal acusatorio como el más adecuado dentro de un estado democrático de derecho, concordado con los adelantos de la diferente ciencias, la prueba indiciaria le ha quitado el reinado a la confesión, constituyéndole en el principal medio probatorio; finalmente debemos precisar que la confesión aun cuando es una prueba revelante para el derecho penal, para que sea sustento de una sentencia condenatoria debe estar confirmada con otras pruebas que establezcan que los hechos que se confiesan son ciertos.

Delito: el derecho penal según sus diversas escuelas, a conceptualizado de diferente manera el concepto de delito, para los efectos criminalsticos, se considera delito a todo acto que se encuentra tipificado en la ley positiva como

ilícito penal, considerándose como ley positiva la ley vigente, esto es, el código penal y las leyes conexas.

Absorción: Es un proceso que separa los componentes de un gas a partir de la inclusión de un solvente en estado líquido, con el que crea una solución.

Audiencia: Acto que se efectúa para conocer de determinadas personas, los argumentos a favor o en contra de decisiones que proyecten las autoridades.

Ciencias forenses: conjunto de disciplinas cuyo objeto común es el de la materialización de la prueba a efectos judiciales mediante una metodología científica. Cualquier ciencia se convierte en forense en el momento que sirve al procedimiento judicial.

Cadena de Custodia: Es el conjunto de procedimientos que permiten garantizar la identidad e integridad de las evidencias o indicios recogidos o levantados en la escena del hecho y que serán sometidos a un estudio o análisis. La Cadena de Custodia se inicia en el lugar donde se obtiene o recolecta cada indicio o evidencia, continúa con todos los traslados y movimientos, tanto internos como externos, y se finaliza por orden de la autoridad competente. Los indicios y las evidencias deben ser protegidos contra contaminación, adulteración, sustracción, intercambio o destrucción.

Capilaridad: es una propiedad de los líquidos que depende de su tensión superficial que le confiere la capacidad de subir o bajar por un tubo capilar.

Etiquetado: Todo indicio debe ser identificado con una etiqueta correspondiente y única que debe contener los siguientes datos:

- Fecha y hora.
- Número de indicio o evidencia.

- Número de registro (folio o llamado).
- Domicilio exacto del lugar de los hechos y/o del hallazgo, ubicación exacta dentro del lugar donde el indicio fue recolectado, así como su descripción material.
- Observaciones adicionales.
- Nombre completo, sin abreviaturas, del agente policial, perito o auxiliar responsable de la recolección y el embalaje.

Fluidos Orgánicos: son aquellos que se encuentran en la escena del crimen: sangre, semen plumas, pelos, secreción vaginal, etc

Informe Pericial: hace referencia a los informes redactados por un perito, especialista algún arte u oficio, que sirva como fuente de asesoramiento al juez en las cuestiones que se soliciten.

Es un documento que contiene información clínica y que tiene carácter jurídico. Debe ser imparcial y el contenido debe mostrarse al juez, a las partes y al cliente, bajo su previo conocimiento. Consiste en corroborar o desmentir la propuesta de la demanda jurídica y las razones que nos llevan a tales conclusiones

Laboratorio Biológico: se fundamenta en los procesos de protección, búsqueda, fijación, colección, embalaje, rotulado, etiquetaje, traslado y preservación, para el análisis mediante procedimientos metodológicos efectivos de la Inmunología y Bioquímica, de fluidos y material de origen biológico, tales como: sangre, semen, saliva, sudor, orina, heces fecales, pulpejos dactilares, apéndices córneos, por cuanto se requiere manejar acuciosamente todos los indicios de interés criminalístico.

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.

Osmosis: es un proceso físico-químico que hace referencia al pasaje de un disolvente, aunque no de soluto, entre dos disoluciones que están separadas por una membrana con características de semipermeabilidad. Estas disoluciones, por otra parte, poseen diferente concentración.

Pericia: puede ser un estudio que desarrolla un perito sobre un asunto encomendado por un juez, un tribunal u otra autoridad, que incluye la presentación de un informe (el informe pericial o dictamen pericial). Este informe puede convertirse en una prueba pericial y contribuir al dictado de una sentencia.

Perito: Es la persona versada en una ciencia arte u oficio, cuyos servicios son utilizados por el juez para que lo ilustre en el esclarecimiento de un hecho que requiere de conocimientos especiales científicos o técnicos.

Peritaje: Es el examen y estudio que realiza el perito sobre el problema encomendado para luego entregar su informe o dictamen pericial con sujeción a lo dispuesto por la ley. Prueba.-argumento, instrumento u otro medio con que se pretende mostrar y hacer patente la verdad o falsedad de algo

2.4 HIPOTESIS Y VARIABLES.

2.4.1 HIPOTESIS.

Mediante métodos inmunológicos (ABAcad HemaTrace) se puede comprobar la presencia de sangre humana en máculas producidas por asesinatos 5 años después de su primer análisis.

2.4.2 VARIABLES

VARIABLE INDEPENDIENTE: Métodos inmunológicos (ABAcad HemaTrace).

VARIABLE DEPENDIENTE: Comprobar la presencia de sangre humana en máculas producidas por asesinatos 5 años después de su primer análisis.

2.4.3 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLE	CONCEPTO	CATEGORIA	INDICADORES	INSTRUMENTO
Independiente: Métodos inmunológicos (ABAcad HemaTrace).	Es un método sensible y específico para la identificación de sangre humana.	Prueba Inmunocromatográfica	Reacción ante la presencia de sangre humana negativa o positiva	Instrumento: Observación. Técnica: Guía de observación.
Dependiente: Comprobar la presencia de sangre humana en máculas producidas por	Líquido que circula por las arterias y las venas del cuerpo, de color rojo	reacción antígeno – anticuerpo	Reacción ante la presencia de sangre humana negativa o positiva	Instrumento: Observación. Técnica: Guía de observación

asesinatos 5 años después de su primer análisis				
---	--	--	--	--

CAPITULO III

3 MARCO METODOLÓGICO

3.1 METODO CIENTIFÍCO

Se aplica el método científico es un proceso destinado a explicar fenómenos, establecer relaciones entre los hechos y enunciar leyes, principios que expliquen los fenómenos físicos del mundo y permitan obtener, con estos conocimientos, aplicaciones útiles al hombre.

Relacionándole al tema de tesina este método se orienta a explicar el porqué de la reacciones que se evidencian en los ensayos inmunocromatograficos a la reacción antígeno - anticuerpo, en aquellos casos de asesinatos analizados 5 años antes y después para comprobar la inalterabilidad de los mismos.

METODO DEDUCTIVO- INDUCTIVO.

En definición la deducción va de lo general a lo particular, el método deductivo es aquél que parte los datos o principios generales aceptados como valederos por su comprobación para deducir por medio del razonamiento lógico, varias suposiciones, es decir; parte de verdades previamente establecidas como principios generales, para luego aplicarlo a casos individuales y comprobar así su validez, esto aplicado al tema de estudio se parte del principio de la técnica

de determinación de sangre humana y se individualiza por su composición antigénica y de anticuerpos.

La inducción va de lo particular a lo general, empleamos el método inductivo cuando de la observación de los hechos particulares obtenemos proposiciones generales, o sea, es aquél que establece un principio general una vez realizado el estudio y análisis de hechos y fenómenos en particular.

La inducción es un proceso mental que consiste en inferir de algunos casos particulares observados la ley general que los rige y que vale para todos los de la misma especie, en el caso del tema de estudio se generaliza a través de las técnicas los procedimientos que se debe cumplir de manera estandarizada para la garantía y confiabilidad de los resultados.

LA APLICACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO.

Es aquél que distingue las partes de un todo y procede a la revisión ordenada de cada uno de sus elementos por separado. En el tema de estudio a las muestras de sangre se les valora desde la calidad obtenida de la muestra de sangre, las condiciones de calidad y conservación de resultados, la aplicación de la técnica, el reporte e interpretación de resultados.

LA APLICACIÓN DEL MÉTODO SINTÉTICO.

Consiste en reunir los diversos elementos que se habían analizado anteriormente, en general la síntesis y análisis son dos fases complementarias, la síntesis es indispensable en cuanto reúne esos elementos y produce nuevos juicios, criterios, tesis y argumentación, por ello en el tema planteado para investigar se procede a la aplicación de las técnicas ya estipuladas por los servicios del sistema especializado integral de investigación en medicina legal y ciencias forenses y se relaciona sus resultados en aquellos casos que se determina un resultado de sangre humana, esto interpretado por su forma de evidenciar la reacción.

TIPO DE INVESTIGACION

La investigación se caracteriza por ser de tipo descriptiva- explicativa de campo no experimental.

DESCRIPTIVA: El objetivo de la investigación descriptiva consiste en llegar a conocer las situaciones, costumbres y actitudes predominantes a través de la descripción exacta de las actividades que se cumplen en un estudio determinado, su meta no se limita a la recolección de datos, sino a la predicción e identificación de las relaciones que existen entre dos o más variables. Este método de vale de la recolección de los datos sobre la base de una hipótesis o teoría, exponen y resumen la información de manera cuidadosa y luego analizan minuciosamente los resultados, a fin de extraer generalizaciones significativas que contribuyan al conocimiento.

EXPLICATIVA: La Teoría, es la que constituye el conjunto organizado de principios, inferencias, creencias, descubrimientos y afirmaciones, por medio del cual se interpreta una realidad. Una teoría o explicación, contiene un conjunto de definiciones y de suposiciones relacionados entre sí de manera organizada sistemática; estos supuestos deben ser coherentes a los hechos relacionados con el tema de estudio, por ello se explica principios De las técnicas relacionados a los ensayos propuestos, su proceso y limitaciones para la obtención de resultados apoyados en un marco científico de dominio universal.

DISEÑO DE INVESTIGACION

Esta investigación fue de campo no experimental

DE CAMPO: La investigación se centra en hacer el estudio donde el fenómeno se da de manera natural, el tema de estudio se lleva a cabo en un lugar

específico en este caso en el Centro de Investigación de Ciencias Forenses de Tungurahua-Laboratorio de Biología Forense.

3.2 POBLACIÓN Y MUESTRA

3.2.1 POBLACIÓN

La presente investigación está constituida por 68 ensayos de Determinación de sangre humana.

3.2.2 MUESTRA

Se trabaja con el total de la población.

3.3 TECNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

- **TÉCNICAS:**

Observación

Análisis documental.

Recopilación bibliográfica

- **INSTRUMENTOS:**

GUIA DE OBSERVACIÓN: datos de los resultados

- **ESTADÍSTICAS:**

TABLA 1: MUESTRAS RECOLECTADAS PARA LA INVESTIGACIÓN.

AÑO 2010	MUESTRAS	PORCENTAJE
FEBRERO	5	7%
MARZO	9	13%
ABRIL	10	15%
JUNIO	8	12%
AGOSTO	10	15%
SEPTIEMBRE	8	12%
OCTUBRE	7	10%
NOVIEMBRE	11	16%
TOTAL	68	100%

Tabla 1. MUESTRAS RECOLECTADAS PARA LA INVESTIGACIÓN
Fuente: Centro de Investigación de Ciencias Forenses Tungurahua-Laboratorio de Biología Forense



Figura 49 Representación gráfica de las muestras recolectada para la investigación
Fuente: Centro de Investigación de Ciencias Forenses Tungurahua-Laboratorio de Biología Forense

INTREPRETACIÓN: Se registró 68 muestras en casos de asesinatos que fueron analizadas durante el año 2010 que fue el periodo de estudio para nuestra investigación, denotándose que en el mes de Noviembre obtuvimos el con un 16% del total, mientras que febrero fue el mes con menor cantidad de muestras analizadas con un 7% del total de muestras trabajadas.

TABLA 2: CASOS POR PROVINCIA.

PROVINCIA	NUMERO	PORCENTAJE
BOLIVAR	11	16%
CHIMBORAZO	18	27%
COTOPAXI	15	22%
TUNGURAHUA	24	35%
TOTAL	68	100%

Tabla 2. CASOS POR PROVINCIA

Fuente: Centro de Investigación de Ciencias Forenses Tungurahua-Laboratorio de Biología Forense

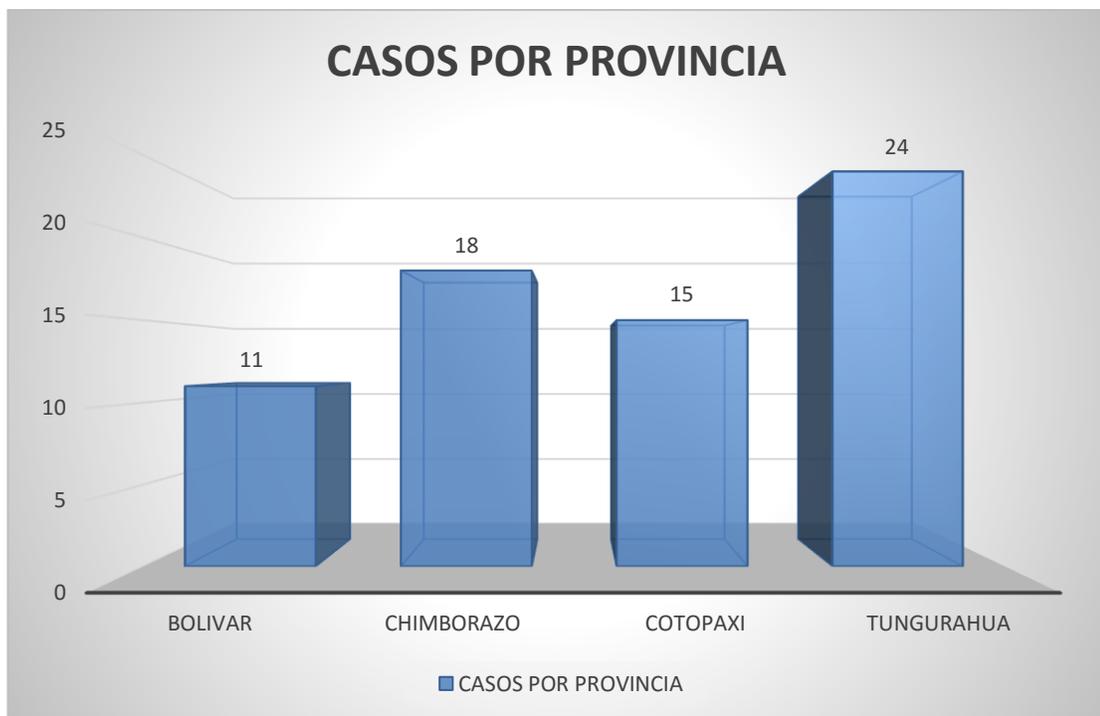


Figura 50. Casos por provincia.

Fuente: Centro de Investigación de Ciencias Forenses Tungurahua-Laboratorio de Biología Forense

INTERPRETACIÓN: Los casos de asesinatos que se analizaron en nuestra investigación provinieron en mayor parte de casos sucedidos en la Provincia de Tungurahua con 24 casos de los 68 analizados y así mismo se pudo observar que en la Provincia de Bolívar es donde se obtuvo un menor número de casos de asesinatos en el año 2010 con un total de 11 casos y con un porcentaje del 16 % del total.

TABLA 3: CASOS IDENTIFICADOS POR GÉNERO

GENERO	NUMERO	PORCENTAJE
MASCULINO	49	72%
FEMENINO	19	28%
TOTAL	68	100%

Tabla 3. CASOS IDENTIFICADOS POR GÉNERO.
Fuente: Centro de Investigación de Ciencias Forenses Tungurahua-Laboratorio de Biología Forense

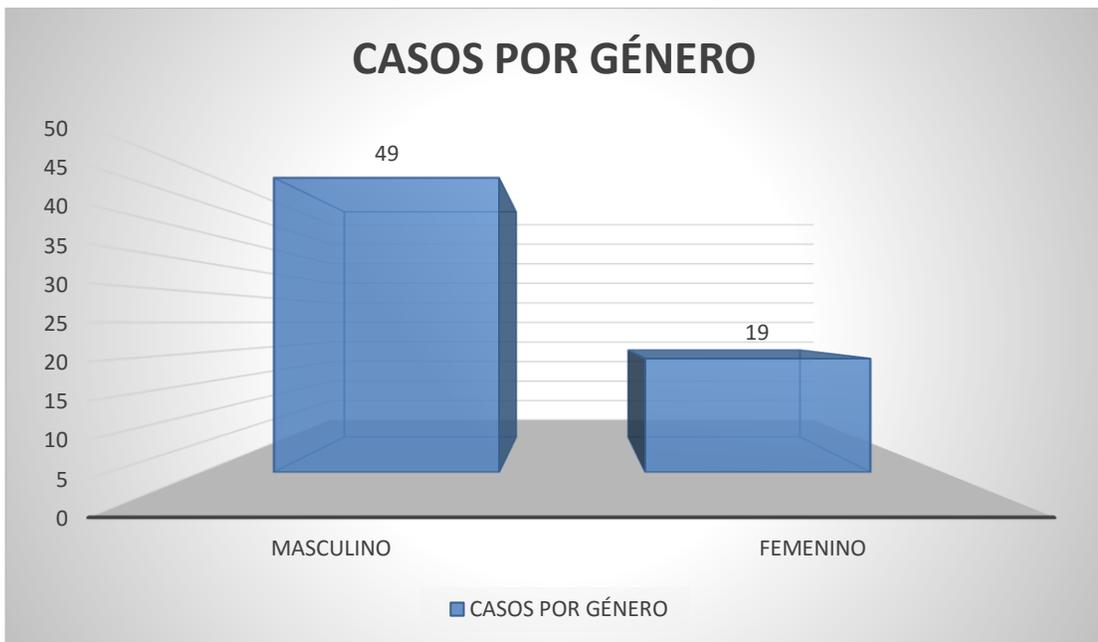


Figura 51. Casos identificados por Género.
Fuente: Centro de Investigación de Ciencias Forenses Tungurahua-Laboratorio de Biología Forense

INTERPRETACIÓN: Se pudo identificar que del total de los casos de asesinatos analizados para esta investigación existió un mayor número de casos provenientes del género masculino con un total de 49 personas del género masculino con un porcentaje de 72%, mientras que con un 28% son 19 casos del género femenino que se analizaron.

TABLA 4: RESULTADOS DE LAS 68 MUESTRAS RECOLECTADAS PARA ESTA INVESTIGACIÓN Y ANALIZADAS EN EL AÑO 2010 Y 2016.

RESULTADOS	AÑO 2010		AÑO 2016	
	NUMERO	PORCENTAJE	NUMERO	PORCENTAJE
POSITIVO PARA SANGRE HUMANA	68	100%	68	100%
NEGATIVO PARA SANGRE HUMANA	0	0%	0	0%
TOTAL:	68	100%	68	100%

Tabla 4. RESULTADOS DE LAS 68 MUESTRAS RECOLECTADAS PARA ESTA INVESTIGACIÓN Y ANALIZADAS EN EL AÑO 2010 Y 2016

Fuente: Centro de Investigación de Ciencias Forenses Tungurahua-Laboratorio de Biología Forense

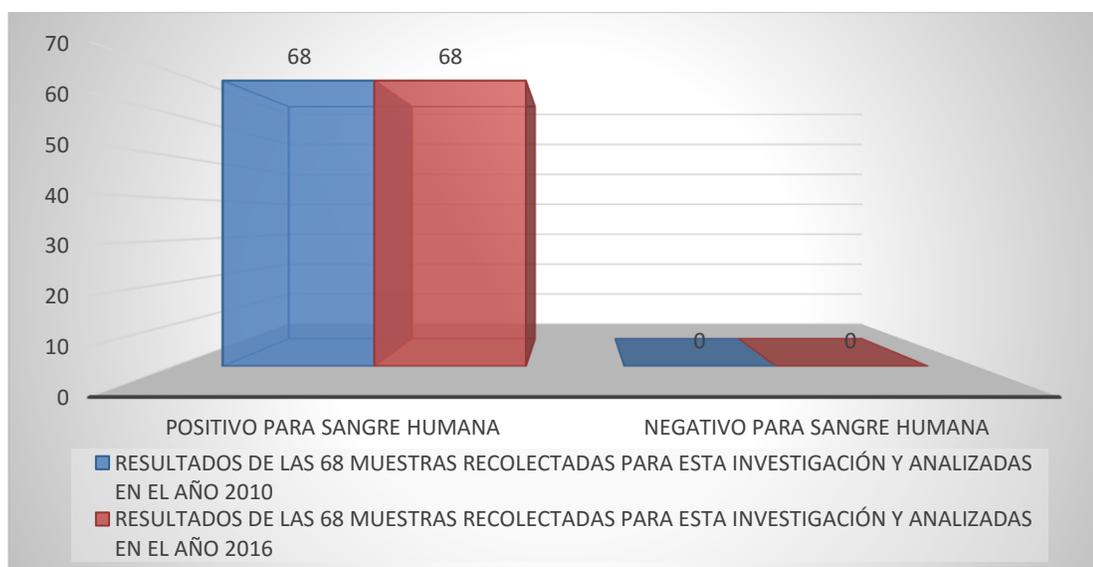


Figura 52. Resultados de las 68 muestras recolectadas para esta investigación y analizadas en el año 2010.

Fuente: Centro de Investigación de Ciencias Forenses Tungurahua-Laboratorio de Biología Forense

INTERPRETACIÓN: De las 68 muestras recolectadas para esta investigación del año 2010 y en donde todas fueron reportadas como POSITIVO PARA SANGRE HUMANA, encontramos que las 68 muestras fueron reanalizadas para la determinación de sangre humana 5 años después y donde el resultado fue POSITIVO PARA SANGRE HUMANA en el 100% de las muestras lo que nos demuestra la inalterabilidad de las mismas al ser analizadas después de varios años después de su primer análisis.

3.4 COMPROBACIÓN DE LA HIPÓTESIS

Mediante métodos inmunológicos (ABAcad HemaTrace) pudimos comprobar la presencia de sangre humana en máculas producidas por asesinatos 5 años después de su primer análisis.

CAPITULO IV

4.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 CONCLUSIONES.

- Recopilamos datos de 68 casos de asesinatos suscitados hace cinco años que fueron analizados en el Centro de Investigación de Ciencias Forenses Tungurahua en donde los resultados dieron positivo para sangre humana en el 100% de los casos, y analizamos las muestras 5 años después dando el mismo resultado, confirmando la inalterabilidad de los mismos a pesar del tiempo entre el primero y el segundo análisis.
- Una vez analizadas las muestras recolectadas para este proyecto realizamos la investigación respectiva en la cual utilizamos la técnica inmucromatográfica cualitativa para la identificación de sangre humana mediante la reacción antígeno - anticuerpo que es la que se utiliza para estas determinaciones.
- Realizamos cuadros y gráficos estadísticos con los resultados de nuestra investigación en donde observamos que los resultados de los análisis de nuestra investigación fueron los mismos que hace cinco años atrás y de esta manera pudimos comprobar nuestra hipótesis de que los resultados de una muestra para determinación de sangre humana pueden ser analizadas varios años después siendo el resultado el mismo y comprobando su inalterabilidad.

4.2 RECOMENDACIONES.

- Es necesario la utilización de todas las barreras de protección indispensables en este tipo de laboratorios de análisis ya que estamos trabajando con muestras biológicas, técnicas sensibles y con casos periciales en los que en muchos de estos estas muestras proceden después con pruebas de ADN por lo que cualquier manipulación errónea puede alterar los resultados de estas pruebas.
- Debemos respetar y seguir paso a paso la técnica específica para este tipo de procedimientos así como también respetar los tiempos necesarios para que se dé la reacción ya que la determinación de sangre humana es una técnica sensible y debemos evitar resultados erróneos.
- Al tratarse se casos de tipo judicial y que cuentan con cadena de custodia es necesario manejar los datos, muestras, evidencias, resultados, etc. con mucha discreción y con la mayor responsabilidad posible.
- El uso de las lámparas forenses es muy útil en la identificación de máculas presuntamente de sangre humana en la escena del crimen y en las prendas remitidas para los análisis de laboratorio.
- Los cortes de las prendas para análisis se sangre humana deben medir mínimo 0.5 por 0.5 mm y máximo 1 cm para así obtener resultados veraces.
- Debemos realizar controles positivos y negativos de cada kit de determinación de sangre humana antes de su uso para asegurarnos de garantizar un resultado confiable.

4.3 BIBLIOGRAFÍA.

- AREA DE CIENCIAS FORENSES. (s.f.). OBTENIDO DE FISCALIA GENERAL DEL ESTADO: <http://www.fiscalia.gob.ec/index.php/sala-de-prensa/11-contenido-institucional/2413-area-de-ciencias-forenses.html>
- CARREÑO, L. (2006). TÉCNICAS UTILIZADAS EN HEMATOLOGÍA FORENSE.
- HUAMAN, C. A. (2013).
- KING, M. W. (2006). THEMEDICALBIOCHEMISTRYPAGE.
- MANUAL DE HISTOPATOLOGIA FORENSE. (s.f.). Obtenido de FISCALIA GENERAL DEL ESTADO.
- MANUAL DE QUIMICA Y TOXICOLOGÍA FORENSE. (s.f.). Obtenido de FISCALIA GENERAL DEL ESTADO.
- MANUAL DE TANATOLOGÍA. (s.f.). Obtenido de FISCALIA GENERAL DEL ESTADO.
- MANUAL DEL LABORATORIO DE BIOLOGIA FORENSE. (s.f.). Obtenido de FISCALIA GENERAL DEL ESTADO.
- MIALE, J. B. (1985). HEMATOLOGIA MEDICINA DE LABORATORIO. BARCELONA: REVERTE.
- MORENO, M. A. (2010). OBTENIDO DE <http://www.monografias.com/trabajos81/serologia-forense/serologia-forense2.shtml>
- PALOMO, I. (209). HEMATOLOGIA. CHILE.
- RODAK. (2005). HEMATOLOGIA Y APLICACIONES CLINICAS. ARGENTINA: MEDICA PANAMERICANA.
- ROGEIRO, L. L. (, 1997, SEGUNDA EDICION, MADRID - ESPAÑA). INMUNOLOGÍA, PATOLOGÍA DEL SISTEMEA INMUNE.
- RUIZ, G. (2009). FUNADAMENTOS DE HEMATOLOGIA. MEXICO: MEDICA PANAMERICANA.

SKENTRA, R. (S.F.). OBTENIDO DE: http://campodocs.com/articulos-para-saber-mas/article_43874.html.

SEROLOGIA FORENSE. (2006). OBTENIDO DE <http://www.monografias.com/trabajos81/serologia-forense/serologia-forense2.shtml>

LINCOGRAFÍA.

- <https://alvarezunahvs.files.wordpress.com/2011/02/manchas-de-sangre.pdf>
- <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis322.pdf>
- <http://themedicalbiochemistrypage.org/es/blood-coagulation-sp.php>
- <http://www.monografias.com/trabajos97/criminalistica-investigacion-criminal-y-escena-del-crimen/criminalistica-investigacion-criminal-y-escena-del-crimen.shtml>
- <http://criminalistica.mx/descargas/documentos/pdf/TecnicasHematologiaForense.pdf>
- http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1135-76062003000400003
- <http://www.uv.es/acastell/1.-Introduccion.pdf>
- http://archivodeinalbis.blogspot.com/2012_02_01_archive.html
- <http://www.criminalistica.com.mx/areas-forenses/hematologia-y-serologia/1347-varios>.
- <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:http://digi.usac.edu.gt/bvirtual/informes/rapidos2008/INF-2008-011.pdf>

ANEXOS

LISTADO DE RESULTADOS DE LAS 68 MUESTRAS RECOLECTADAS PARA ESTA INVESTIGACIÓN Y ANALIZADAS EN EL AÑO 2010.

MUESTRAS	PROVINCIA	SEXO	RESULTADO PARA SANGRE HUMANA
1	TUNGURAHUA	MASCULINO	Positivo
2	TUNGURAHUA	MASCULINO	Positivo
3	TUNGURAHUA	MASCULINO	Positivo
4	TUNGURAHUA	FEMENINO	Positivo
5	TUNGURAHUA	MASCULINO	Positivo
6	TUNGURAHUA	MASCULINO	Positivo
7	TUNGURAHUA	MASCULINO	Positivo
8	TUNGURAHUA	MASCULINO	Positivo
9	TUNGURAHUA	MASCULINO	Positivo
10	TUNGURAHUA	FEMENINO	Positivo
11	TUNGURAHUA	FEMENINO	Positivo
12	TUNGURAHUA	MASCULINO	Positivo
13	TUNGURAHUA	MASCULINO	Positivo
14	TUNGURAHUA	MASCULINO	Positivo
15	TUNGURAHUA	FEMENINO	Positivo

16	TUNGURAHUA	MASCULINO	Positivo
17	TUNGURAHUA	FEMENINO	Positivo
18	TUNGURAHUA	MASCULINO	Positivo
19	TUNGURAHUA	MASCULINO	Positivo
20	TUNGURAHUA	MASCULINO	Positivo
21	TUNGURAHUA	FEMENINO	Positivo
22	TUNGURAHUA	MASCULINO	Positivo
23	TUNGURAHUA	MASCULINO	Positivo
24	TUNGURAHUA	MASCULINO	Positivo
25	CHIMBORAZO	MASCULINO	Positivo
26	CHIMBORAZO	MASCULINO	Positivo
27	CHIMBORAZO	MASCULINO	Positivo
28	CHIMBORAZO	MASCULINO	Positivo
29	CHIMBORAZO	MASCULINO	Positivo
30	CHIMBORAZO	FEMENINO	Positivo
31	CHIMBORAZO	FEMENINO	Positivo
32	CHIMBORAZO	FEMENINO	Positivo
33	CHIMBORAZO	FEMENINO	Positivo
34	CHIMBORAZO	MASCULINO	Positivo
35	CHIMBORAZO	MASCULINO	Positivo

36	CHIMBORAZO	MASCULINO	Positivo
37	CHIMBORAZO	MASCULINO	Positivo
38	CHIMBORAZO	MASCULINO	Positivo
39	CHIMBORAZO	MASCULINO	Positivo
40	CHIMBORAZO	FEMENINO	Positivo
41	CHIMBORAZO	MASCULINO	Positivo
42	CHIMBORAZO	MASCULINO	Positivo
43	BOLIVAR	FEMENINO	Positivo
44	BOLIVAR	FEMENINO	Positivo
45	BOLIVAR	MASCULINO	Positivo
46	BOLIVAR	FEMENINO	Positivo
47	BOLIVAR	MASCULINO	Positivo
48	BOLIVAR	FEMENINO	Positivo
49	BOLIVAR	MASCULINO	Positivo
50	BOLIVAR	MASCULINO	Positivo
51	BOLIVAR	MASCULINO	Positivo
52	BOLIVAR	FEMENINO	Positivo
53	BOLIVAR	MASCULINO	Positivo
54	COTOPAXI	MASCULINO	Positivo
55	COTOPAXI	MASCULINO	Positivo

56	COTOPAXI	MASCULINO	Positivo
57	COTOPAXI	FEMENINO	Positivo
58	COTOPAXI	MASCULINO	Positivo
59	COTOPAXI	MASCULINO	Positivo
60	COTOPAXI	MASCULINO	Positivo
61	COTOPAXI	MASCULINO	Positivo
62	COTOPAXI	MASCULINO	Positivo
63	COTOPAXI	MASCULINO	Positivo
64	COTOPAXI	MASCULINO	Positivo
65	COTOPAXI	FEMENINO	Positivo
66	COTOPAXI	MASCULINO	Positivo
67	COTOPAXI	MASCULINO	Positivo
68	COTOPAXI	FEMENINO	Positivo

Tabla 5. LISTADO DE RESULTADOS DE LAS 68 MUESTRAS RECOLECTADAS PARA ESTA INVESTIGACIÓN Y ANALIZADAS EN EL AÑO 2010

Fuente: Centro de Investigación de Ciencias Forenses Tungurahua-Laboratorio de Biología Forense

**LISTADO DE RESULTADOS DE LAS 68 MUESTRAS RECOLECTADAS
PARA ESTA INVESTIGACIÓN Y ANALIZADAS EN EL AÑO 2016.**

MUESTRAS	PROVINCIA	SEXO	RESULTADO PARA SANGRE HUMANA
1	TUNGURAHUA	MASCULINO	Positivo
2	TUNGURAHUA	MASCULINO	Positivo
3	TUNGURAHUA	MASCULINO	Positivo
4	TUNGURAHUA	FEMENINO	Positivo
5	TUNGURAHUA	MASCULINO	Positivo
6	TUNGURAHUA	MASCULINO	Positivo
7	TUNGURAHUA	MASCULINO	Positivo
8	TUNGURAHUA	MASCULINO	Positivo
9	TUNGURAHUA	MASCULINO	Positivo
10	TUNGURAHUA	FEMENINO	Positivo
11	TUNGURAHUA	FEMENINO	Positivo
12	TUNGURAHUA	MASCULINO	Positivo
13	TUNGURAHUA	MASCULINO	Positivo
14	TUNGURAHUA	MASCULINO	Positivo
15	TUNGURAHUA	FEMENINO	Positivo
16	TUNGURAHUA	MASCULINO	Positivo
17	TUNGURAHUA	FEMENINO	Positivo

18	TUNGURAHUA	MASCULINO	Positivo
19	TUNGURAHUA	MASCULINO	Positivo
20	TUNGURAHUA	MASCULINO	Positivo
21	TUNGURAHUA	FEMENINO	Positivo
22	TUNGURAHUA	MASCULINO	Positivo
23	TUNGURAHUA	MASCULINO	Positivo
24	TUNGURAHUA	MASCULINO	Positivo
25	CHIMBORAZO	MASCULINO	Positivo
26	CHIMBORAZO	MASCULINO	Positivo
27	CHIMBORAZO	MASCULINO	Positivo
28	CHIMBORAZO	MASCULINO	Positivo
29	CHIMBORAZO	MASCULINO	Positivo
30	CHIMBORAZO	FEMENINO	Positivo
31	CHIMBORAZO	FEMENINO	Positivo
32	CHIMBORAZO	FEMENINO	Positivo
33	CHIMBORAZO	FEMENINO	Positivo
34	CHIMBORAZO	MASCULINO	Positivo
35	CHIMBORAZO	MASCULINO	Positivo
36	CHIMBORAZO	MASCULINO	Positivo
37	CHIMBORAZO	MASCULINO	Positivo

38	CHIMBORAZO	MASCULINO	Positivo
39	CHIMBORAZO	MASCULINO	Positivo
40	CHIMBORAZO	FEMENINO	Positivo
41	CHIMBORAZO	MASCULINO	Positivo
42	CHIMBORAZO	MASCULINO	Positivo
43	BOLIVAR	FEMENINO	Positivo
44	BOLIVAR	FEMENINO	Positivo
45	BOLIVAR	MASCULINO	Positivo
46	BOLIVAR	FEMENINO	Positivo
47	BOLIVAR	MASCULINO	Positivo
48	BOLIVAR	FEMENINO	Positivo
49	BOLIVAR	MASCULINO	Positivo
50	BOLIVAR	MASCULINO	Positivo
51	BOLIVAR	MASCULINO	Positivo
52	BOLIVAR	FEMENINO	Positivo
53	BOLIVAR	MASCULINO	Positivo
54	COTOPAXI	MASCULINO	Positivo
55	COTOPAXI	MASCULINO	Positivo
56	COTOPAXI	MASCULINO	Positivo
57	COTOPAXI	FEMENINO	Positivo

58	COTOPAXI	MASCULINO	Positivo
59	COTOPAXI	MASCULINO	Positivo
60	COTOPAXI	MASCULINO	Positivo
61	COTOPAXI	MASCULINO	Positivo
62	COTOPAXI	MASCULINO	Positivo
63	COTOPAXI	MASCULINO	Positivo
64	COTOPAXI	MASCULINO	Positivo
65	COTOPAXI	FEMENINO	Positivo
66	COTOPAXI	MASCULINO	Positivo
67	COTOPAXI	MASCULINO	Positivo
68	COTOPAXI	FEMENINO	Positivo

Tabla 6. LISTADO DE RESULTADOS DE LAS 68 MUESTRAS RECOLECTADAS PARA ESTA INVESTIGACIÓN Y ANALIZADAS EN EL AÑO 2016

Fuente: Centro de Investigación de Ciencias Forenses Tungurahua-Laboratorio de Biología Forense

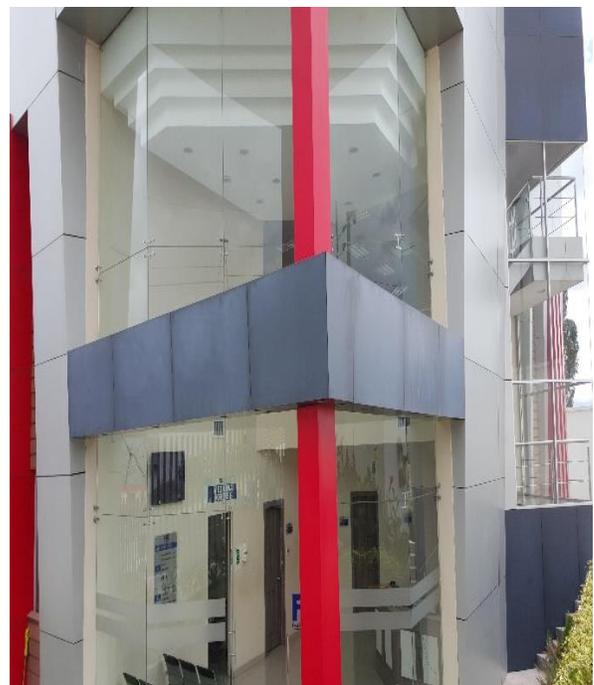
CENTRO DE INVESTIGACIÓN DE CIENCIAS FORENSES TUNGURAHUA



Fuente: C.I.C.F Tungurahua



Fuente: C.I.C.F Tungurahua



Fuente: C.I.C.F Tungurahua

LABORATORIO DE BIOLOGÍA FORENSE



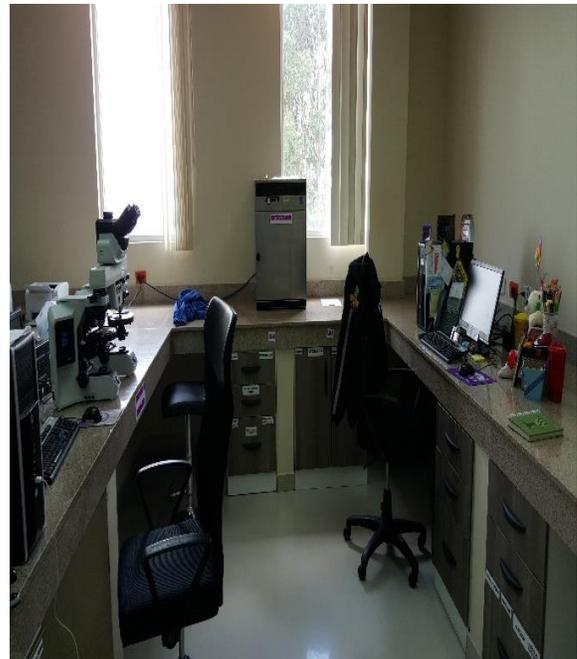
Fuente: Instalaciones del C.I.C.F Tungurahua



Fuente: Instalaciones del C.I.C.F Tungurahua

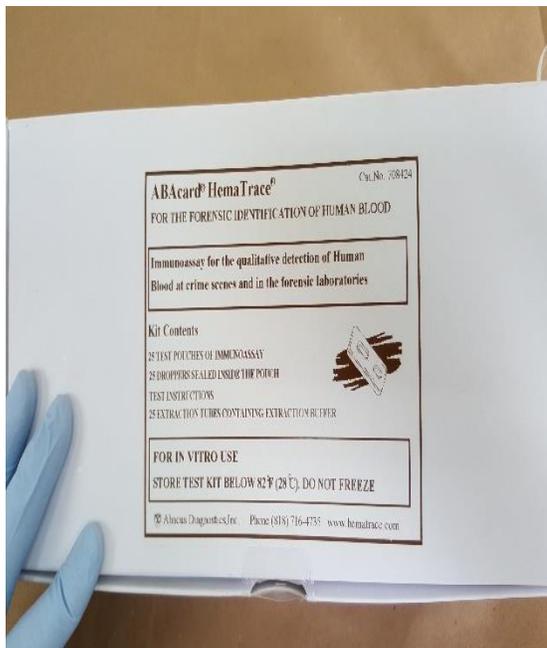


Fuente: Instalaciones del C.I.C.F Tungurahua

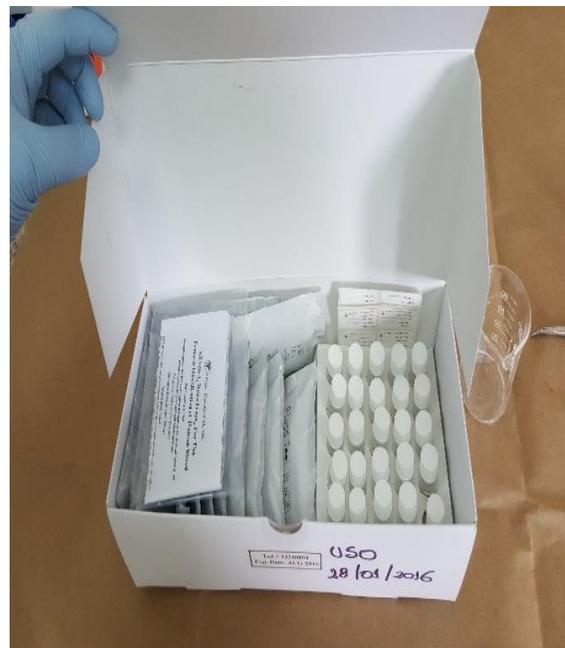


Fuente: Instalaciones del C.I.C.F Tungurahua

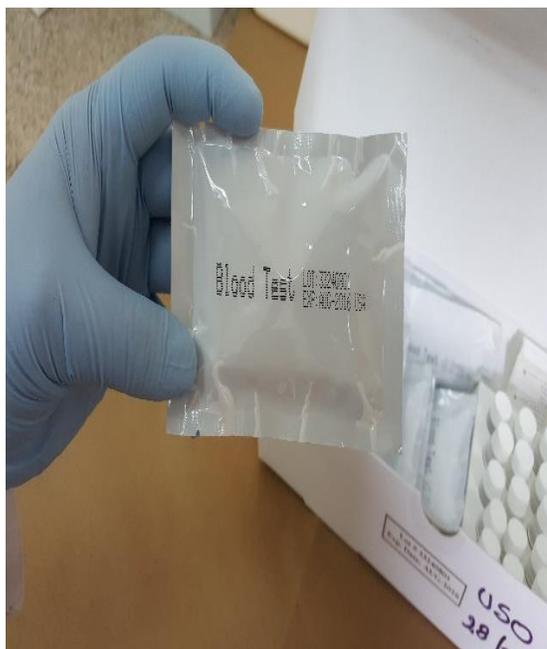
KIT ABA CARD HEMATRACE PARA IDENTIFICACIÓN DE SANGRE HUMANA



Fuente: C.I.C.F Tungurahua Lab. Biología F.



Fuente: C.I.C.F Tungurahua Lab. Biología F.



Fuente: C.I.C.F Tungurahua Lab. Biología F.



Fuente: C.I.C.F Tungurahua Lab. Biología F.

PROCESAMIENTO DE EVIDENCIAS



Fuente: Procesamiento de muestras C.I.C.F.T



Fuente: Procesamiento de muestras C.I.C.F.T



Fuente: Procesamiento de muestras C.I.C.F.T



Fuente: Procesamiento de muestras C.I.C.F.T

PROCESAMIENTO DE EVIDENCIAS



Fuente: Procesamiento de muestras C.I.C.F.T

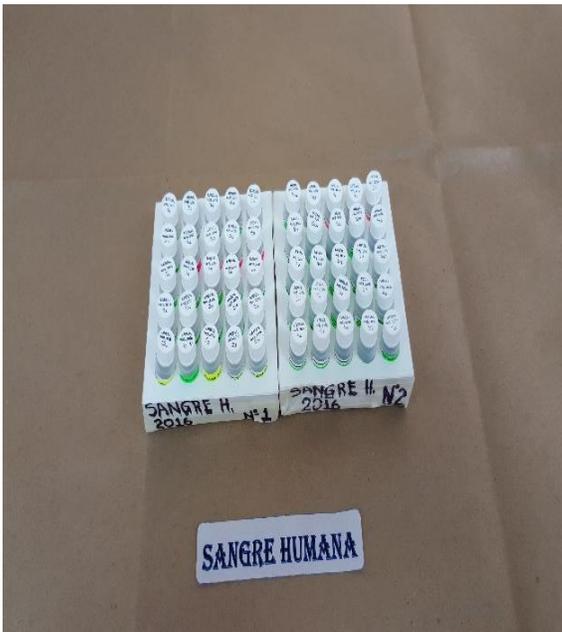


Fuente: Procesamiento de muestras C.I.C.F.T

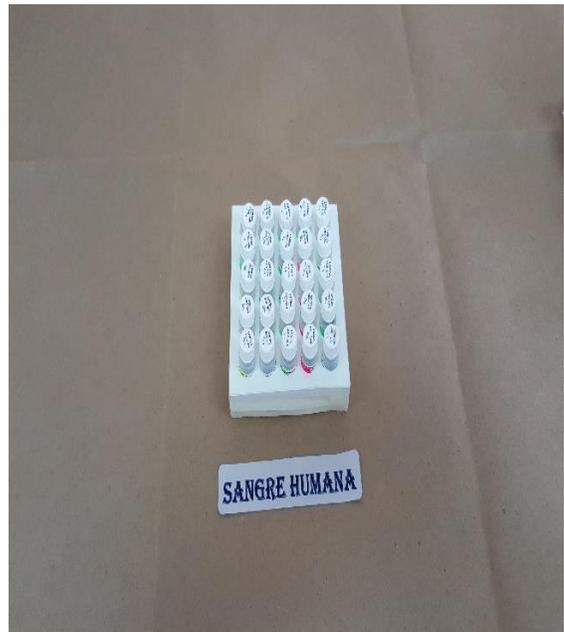


Fuente: Procesamiento de muestras C.I.C.F.T

PROCESAMIENTO DE EVIDENCIAS



Fuente: Procesamiento de muestras C.I.C.F.T



Fuente: Procesamiento de muestras C.I.C.F.T

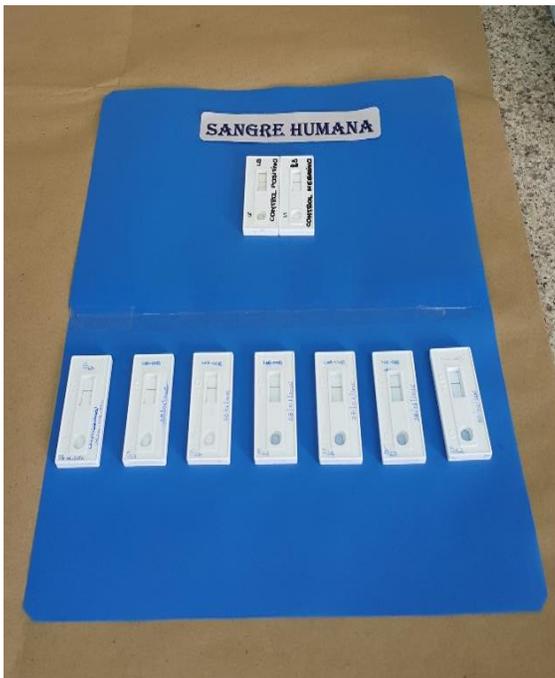


Fuente: Procesamiento de muestras C.I.C.F.T

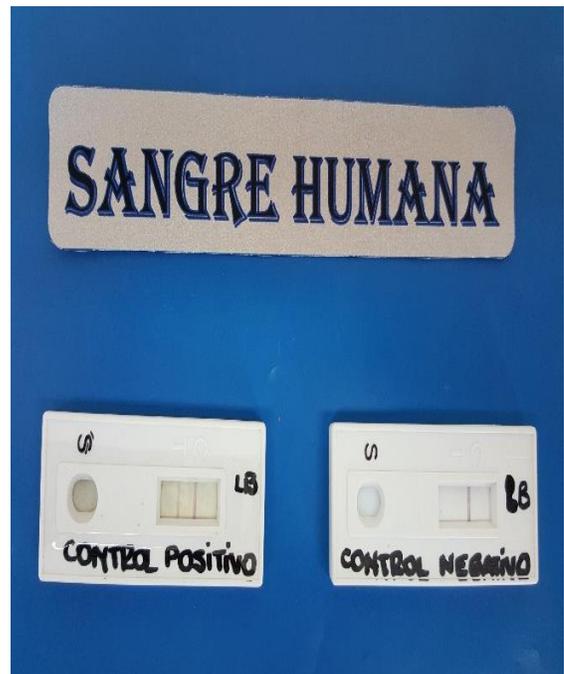


Fuente: Procesamiento de muestras C.I.C.F.T

PROCESAMIENTO DE EVIDENCIAS



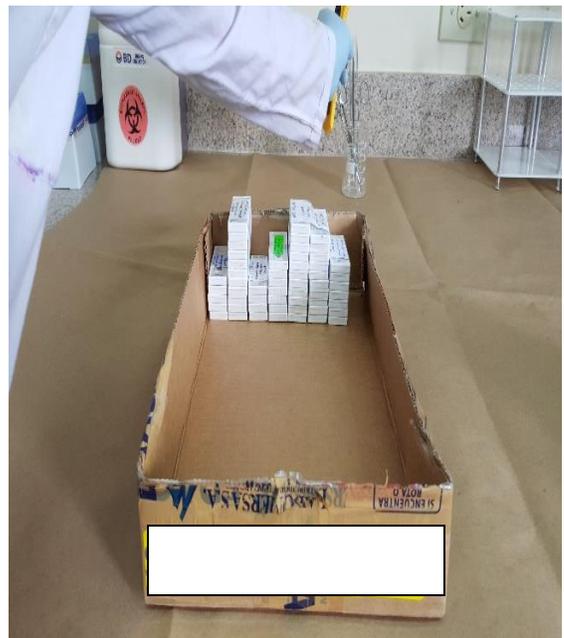
Fuente: Procesamiento de muestras C.I.C.F.T



Fuente: Procesamiento de muestras C.I.C.F.T



Fuente: Procesamiento de muestras C.I.C.F.T



Fuente: Procesamiento de muestras C.I.C.F.T

ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS ANALIZADAS



Fuente: C.I.C.F Tungurahua Lab. Biología F.



Fuente: C.I.C.F Tungurahua Lab. Biología F.



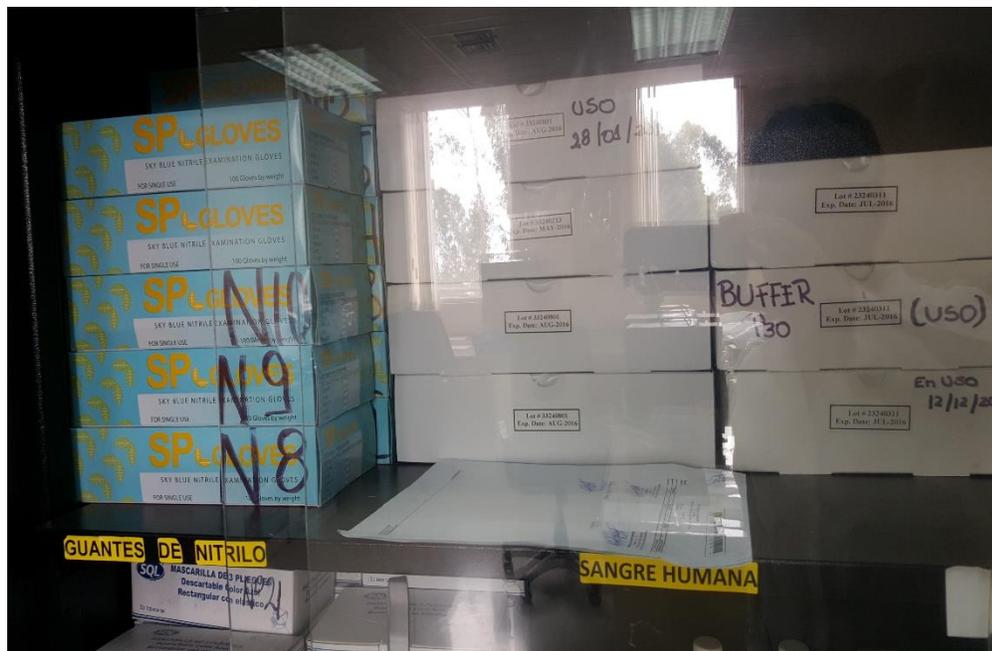
Fuente: C.I.C.F Tungurahua Lab. Biología F.

ÁREA DE PROCESAMIENTO DE MUESTRAS



Fuente: C.I.C.F Tungurahua Lab. Biología F.

ALMACENAMIENTO DE REACTIVOS



Fuente: C.I.C.F Tungurahua Lab. Biología F.

**TECNICA ABA CARD - HEMA TRACE PARA IDENTIFICACIÓN FORENSE
DE SANGRE HUMANA**

**CENTRO DE INVESTIGACIÓN DE CIENCIAS FORENSES
TUNGURAHUA**

LABORATORIO DE BIOLOGÍA FORENSE



ADiestRAMIENTO EN EL ANÁLISIS DE ADN

Manual de adiestramiento de Laboratorio

Protocolo 2.20

Prueba ABACard HemaTrace para la identificación de hemoglobina humana

Este protocolo de Laboratorio (o parte del mismo) ha sido proporcionado como un ejemplo de un Laboratorio SOP, cortesía del Centro Nacional de Tecnología de Ciencias Forenses.

Se ha incluido el adiestramiento y sirve como ejemplo.

PRESIDENT'S DNA INITIATIVE

INTRODUCCIÓN

El ABACard HemaTrace es un mecanismo de prueba utilizado para ayudar en la posible identificación de sangre humana, mediante la detección de la presencia de la hemoglobina humana.

Si la hemoglobina humana está presente en la muestra sus antígenos reaccionaran con el móvil, anticuerpo monoclonal Hb antihumano en el área marcada “S”.

Esto formara un complejo móvil anticuerpo – antígeno en cual migra a través del dispositivo hacia el área marcada “T”.

El área “T” contiene anticuerpos policlonal antihumano estacionario que captaran el complejo móvil anticuerpo – antígeno.

Esto forma un sándwich, anticuerpo – antígeno – anticuerpo. Los anticuerpos están marcados con un colorante de color rosa y tras la agregación de estos anticuerpos se forma una línea de color rosa en la zona “T” que indica la presencia de hemoglobina humana en la muestra.

Esta prueba también contiene un control positivo interno. En el área marcada “C” existen anticuerpos estacionarios de anti inmunoglobulina, que se unen al excedente de anticuerpo monoclonal Hb anti humano que no se unen a los anticuerpos en la zona “T”.

Las partículas de colorante rosa capturadas formaran una línea rosa en la zona “C” indicando que la prueba ha funcionado correctamente.

La presencia de dos líneas de color rosa, uno en la zona “T” y otro en la zona “C” indican un resultado positivo.

Pla presencia de una sola línea de color rosa en la zona “C” indica un resultado negativo.

Si no ay una línea de color rosa en la zona “C” entonces la prueba no es válida.

Esta prueba ha demostrado que pueden ocurrir falsos positivos con sangre hurón.

CONSIDERACIONES DE SEGURIDAD

Remitirse al manual de seguridad en el laboratorio (s)

PREPARACIÓN

Kit ABACard HemaTrace

INSTRUMENTACIÓN

- Kit ABACard HemaTrace
- Pipetas
- Reloj
- bortex

ESTANDARES MÍNIMOS Y CONTROLES

- control positivo (sangre conocida)
- control negativo – tampón de extracción (incluida en el test)

PROCEDIMIENTO DEL ANÁLISIS

1. colocar aproximadamente 3 mm² de un corte o un ¼ de una torunda dentro de un tubo de micro centrífuga estéril de 1.5 ml. El tamaño del corte puede ser ajustado en base a la cantidad de material biológico.
2. pipetear 300 ul de tampón de extracción del kit comercial dentro del tubo de micro centrifuga. Brevemente realizar bortex.
3. encubar durante 1 – 5 minutos a temperatura ambiente.
4. retirar el dispositivo del kit ABACard HemaTrace de la bolsa sellada.
5. etiquetar el dispositivo de prueba apropiadamente.
6. añadir 150 ul (o 4 gotas con el gotero) de la muestra a la pocillo de muestra “S” en el dispositivo de prueba.
7. leer el resultado a los 10 minutos.
8. la presencia de dos líneas de color rosa, uno en la zona “T” y otro en zona “C” indican un resultado positivo. La presencia de una sola línea rosa en la zona “C” indica un resultado negativo. Un resultado negativo indica que no hay antígeno de hemoglobina presente o está por debajo del límite de detección de la prueba. Si no hay una línea de color rosa en la zona “C”, la prueba no es válida

Abacus Diagnostics, Inc
**ABAcard, HemaTrace For The Forensic Identification of
 Human Blood**
For Forensic Use

Immunoassay for the qualitative detection of human blood at
 crime scenes and in forensic laboratories

Technical Information Sheet

Intended Use

ABAcard HemaTrace is designed to be an easy to use test for human (primate) blood in forensic casework laboratories or at crime scenes. This immunochromatographic test offers extremely high sensitivity and specificity, is capable of detecting trace levels of human hemoglobin, and can be performed within 10 minutes. ABAcard HemaTrace has been shown to be a valuable test for the forensic identification of human blood and is a highly sensitive (visual) test relative to other visual or presumptive tests (hemastics, TMV and LCV).

Summary

ABAcard Hema Trace is an immunochromatographic test for the detection of human blood. Various methods of detection of human blood are currently being used. A disadvantage of all the conventional methods is that (a) they are either not sensitive enough or (b) are not specific or (c) are cumbersome and (d) time consuming to perform at a crime scene and in a forensic laboratory. Abacus Diagnostics' ABAcard Hematrace is simple to perform, sensitive, and it produces easy to interpret results in only 10 minutes. This test would prove to be of even more importance in cases where the stains are aged or are of smaller size. ABAcard Hematrace can easily be implemented at crime scenes and in forensic casework laboratories.

Principle Behind This Test

In this test procedure, 4 drops or 150 µl of sample is added to the sample well "S", and allowed to soak in. If human hemoglobin (hHb) is present in the specimen, it will react with the mobile monoclonal anti-human Hb antibody and a mobile antigen-antibody complex is formed. This mobile antibody-antigen complex migrates through the absorbent card towards the test area "T", in the test area "T", and anti-human Hb antibody is immobilized. This immobilized antibody captures the above complex so that an antibody-antigen-antibody sandwich is formed. The conjugated pink particles concentrate in a narrow zone on the membrane. When the hHb concentration in the sample exceeds 0.05 µg/ml the pink dye particles will form a pink colored band in the test area "T" indicating a positive test result. Ask an internal positive control, hHb antibody-dye conjugates cannot bind to the antibody in the test area "T", but are captured by immobilized anti-immunoglobulin antibody present in the control area "C" forming a complex. The captured pink dye particles will then form a band in the control area "C", indicating that the test has worked properly and proper procedures have been followed. Those, presence of two colored lines, one in the test area "T" and other in the control area "C" indicate a positive result, while a line only in the control area "C" would indicate a negative result (provided no "high dose hook effect").

Reagents And Materials Provided

1. Test Device (25 pcs, each sealed individually in a test pouch with its own desiccant and its own dropper)
2. Extraction tubes containing extraction buffer (25 pcs).
3. Identification labels (25 pcs)
4. test instructions.

Materials Required But Not Included

1. Clock/Watch or a Timer

Sample collection & size, Preparation and Storage

Sample Collection Bloodstained fiber clothing, small blood particles scraped off a stain, fibers from a moist cotton swab used to collect stains and liquid blood, etc. May be used. Do not freeze wet blood. Use standard techniques. Sample size following are some estimates that you may consider but the limits can be varied based upon various factors such as age of sample, etc.

- for fresh and aged stains (e.g. on cloth or fabric): between 3mm²-5mm² (Upper limit also specified due to the possibility of high dose hook effect)
- for washed stains (e.g. on cloth or fabric): Approx. 2cm²
- For swabs: ¼ or ½ swab

Preparation

For fresh bloodstained materials: extraction of specimens from fresh bloodstained materials may be performed either on a slide or in the extraction tube that is provided with the kit. Soak the specimen for at least 1-5 minutes in the entire volume of buffer in the extraction tube. Ensure the cap is tight and then gently mix the contents in the tube for 10 seconds or more without foaming. The extract from the specimen may now be used immediately for testing. Follow the test protocol.

For aged bloodstained materials that have been stored at room temperature upto 5 years: Follow the above except the extraction time should now be at least 30 minutes.

Combined Human Hemoglobin-luminol Assay: ABAcard HemaTrace test Works with various luminol reagents. Use same procedures as above even when luminol is used on the stained sample. If you strongly suspect that it is human blood but are getting negative results, make sure the pH of the extract is between 1 and 9 pH strips may be dipped directly into the sample to test/adjust the pH. Do not use sodium hydroxide gel to adjust the pH.

In a forensic Lab setting only:

For bloodstains that have been stored at room temperature upto 5 years If the procedure above does not yield results and the presence of human blood is strongly suspected then the following procedure may also be tried. Soak teared bloodstain in 2-3 drops of 5% ammonia for 2-5 minutes to extract the emoglobin. Allow the ammonia to evaporate. Add 8-10 drops of extraction buffer. The pH of the sample must be between 1 and 9. The pH may be tested by dipping a pH paper in the extraction tube. The sample may now be immediately used. Do not use sodium hydroxide gel to adjust the pH.

Combined human hemoglobin – DNA assay.

Use 600 µl of HEPES buffer. Soak the stain (the length of the soak depends on the age of stain). Verify that the pH is between 1 and 9 using a pH paper use 175 µl of resulting supernatant for this test. The remaining sample may be used for DNA analysis.

Storage. specimen collection tubes containing human hemoglobin can be stored or transported for 13 days between 2-8 C, for 10 days between 14-30 C and for 3 days at 37 C.

Test Protocol

1. allow the sample to warm to room temperature if it has been refrigerated.
2. remove the card from the sealed pouch.
3. label the test card with the case number.
4. add 6-7 drops of sample (200µL) to the sample well "S"



1. Positive. If there are two pink lines, one each in the test area "T" and in the control area "C", the test result is positive and indicates that the human hemoglobin level is at or above 0.05 µg/ml.

2. Negative. If there is only one pink line, the test result is negative. This may indicate that (a) no human hemoglobin is present above 0.005 µg/ml or (b) presence of "high dose hook effect". Presence of "high dose hook effect" may give false negative results due to the presence of high concentration of human hemoglobin in the sample, as for example in undiluted blood. In such cases where human blood is strongly suspected, the extract may be retested using a 1:10 & 1:100 fold dilution.

3. Invalid. If there is no pink line visible in the control area "c", the test is inconclusive. Repeat the test and reexamine the test procedure carefully

Stability, Storage and shelf Life

ABACard HemaTrace kit should be stored below 82°F (28°C) until the expiration date as printed on the kit/test. Do not use the kit after the expiration date. Avoid freezing. Normally the kits upon receipt will have a remaining shelf life at least a year.

Precautions

- this test is only for the in vitro qualitative detection of human blood for crime scene/forensic use.
- do not use beyond the expiration date which appears on the sealed pouch
- disposable gloves should be worn while handling kit reagents or specimens. Wash your hands after the test.
- a fresh transfer pipette for each specimen should be used.
- each specimen should be handled with care and treated as if potentially infectious.
- do not use sodium hydroxide gel to adjust pH.

Quality Control

The control line is the control area "C" can be considered an internal procedural control. A distinct pinkish line will always appear if the test has been performed correctly. If the control line "C" does not appear, the test procedure. A quality control test using positive and negative control standards may also be performed.

Limitations

1. ABACard HemaTrace is only for in vitro detection of human hemoglobin for forensic use. Not for diagnostic use, for research use only, the test must be performed in strict accordance with these instructions to obtain accurate and reproducible results.
2. old and encrusted bloodstains should be properly extracted before use. Storage temperature of the stain may also affect the results.
3. positive results may be obtained from a hole from blood from the domestic ferret. However in forensic caseworks, the practical implications of this cross reactivity is minimal, since one can assume that the number of cases. Where ferret blood may be found is low and crime scene investigation can determine if a pet ferret was possibly at the scene. The test results should be interpreted in conjunction with other information.
4. due to the extreme sensitivity on the test, trace levels of hemoglobin might be detected occasionally in body fluid samples other than blood. However knowing this fact, this limitation has no practical impact in vast majority of cases.

Performance Characteristics

Sensitivity

The detection limit of ABACard HemaTrace has been shown to be 0.005 µg/ml in 10 minutes. Results with specimens having high levels of hemoglobin may be obtained as early as 2 minutes. For negative result, wait for full 10 minutes.

Specificity

No cross reactivity to hemoglobin from amphibians, birds, fish, goat, horse, dog, cat, rabbit, sheep, turkey, pig, chicken, bovine, deer, porcupine, bear, skunk, tortoise, has been observed, ABACard HemaTrace is specific for human hemoglobin subtypes HbA0, HbA2, HbF, HbS and for hemoglobin derived from primates and ferrets. No cross reactivity to horse radish peroxidase has been observed up to 2000 µg/ml. No prozone effect was detected up to a hemoglobin concentration of 2000 µg/ml in the transport medium.

Interfering Substances

No interferences were observed with the stains that were:

Luminol treated	Off of Plant material	Coomassie blue treated
Off of leather	ninhydrin treated	From washed jeans
Soil Debris treated	Bleached	Tide detergent

Some Frequently Asked Questions

Q1. Why does the sensitivity of the test matter specially when the blood stains are old?

As bloodstains age, the solubility of the blood proteins is reduced. The high sensitivity of the test thus aids in the detection of hemoglobin from aged bloodstains.

Q2. A 1.0 mm long freshly bloodstained thread is generally to give a positive result. You may use the stimulus as per section on the stain size on the other side of this sheet.

Q3. How many times I may be able to reproduce/repeat test results with the given volume of the buffer.

Under normal handling, you may be able to repeat the test with the same extract for about 4-8 times.

Q4. I have a negative result. I strongly believe it is blood, how long after can I repeat.

The test can be repeated after 10 minutes, however without the knowledge of the stain, it is difficult to predict an exact time interval after which you should repeat, therefore, depending on the simple condition you may want to wait half an hour before repeating the test. Another possible reason for a negative result is the high. In this case, you may dilute the extract 1:10 fold with distilled water (if still negative), you may retest with 1:100 dilution). Alternatively believe, you may have too little hemoglobin in the sample. In this case increase the size of the stain to be extracted. A further attempt can be made using a fresh stain.

Q5. Can I use the same dropper again

It is important to remember that each card comes with its own dropper so you do not need to reuse the dropper to perform another test.

Q6. Is there any minimum and maximum times for reading the results.

There is a maximum time of 10 minutes. The minimum time in a positive result is the time at which both lines appear. It is to be noted that the results should not be read after 10 minutes since non specific reactions may occur and may result in false positive. If you get a positive result much before 10 minutes, you do not need to wait any longer.

Q7. What does control band "C" represent

The build procedural positive control is provided by the appearance of a pink line next to the letter "C", validating the integrity of the test, assuring that the correct test procedure was followed and indicating that proper volume of the fluid entered the test cassette and capillary flow occurred

Q8. Does the intensity of either of the test band "T" and control band "C" matter

The intensity of either the control band or test band should not be compared between test sets or to each other or ABACard HemaTrace test and no quantitative interpretation should be made based upon differences in the intensity. The mere appearance of both lines irrespective of their intensity proves the presence of hemoglobin

Q9. What is "High those hook effect"

"High those hook effect" occurs when the human Hb concentration is too high since ABACard HemaTrace is very sensitive. The mechanism behind this effect is that huge amounts of human Hb bind to the antibody to form an antigen-antibody complex but also free Hb migrates towards the test area "T". the antibody in the test area "T". is blocked by this free Hb therefore the mobile antigen-antibody complex with the pink color cannot bind to the antibody. As a result no pink line will form in the test area "T" although a lot of Hb is present in the sample giving a false negative result. An approximate white to the hook effect is the color of the extract solution. The darker read it is, the greater the chance of a hook effect occurring. Ideally, for fresh bloodstains, the extract should be a straw, coloured solution.