

*“Por elemental que parezca no debemos olvidar nunca que en el Laboratorio solo se estudia lo que se envía, que el análisis se inicia sobre el indicio que se recibe, no sobre el que se manda, por lo cual si durante el trayecto o el tiempo transcurrido éste se altera, será sobre esa evidencia alterada sobre la que iniciaremos nuestro trabajo. Si el indicio no se recoge o se recoge mal, el resultado final será como si no hubiéramos tenido indicios, afectando por completo el proceso judicial.”*

*De los Prof. José Antonio y Miguel Lorente Acosta*

## **9.- DISEÑO METODOLOGICO**

El diseño de investigación es experimental se llevo a cabo en manchas de sangres de los grupo sanguíneo A, B, AB y O factor Rh (+), de muestras sanguíneas recolectadas de donantes anónimos, en el Laboratorio Químico Pericial de Policía Científica de Mar del Plata, durante los meses de Octubre a Diciembre del 2010, Junio a Agosto de 2011 y Marzo a Mayo de 2012.

### **9.1 Método de Investigación**

El tipo de método de investigación es del tipo experimental. Las variables Temperatura y Tiempo.

### **9.2 Método General de Investigación**

#### **9.2.1 Muestra**

Las muestras motivo de screening en la presente investigación fueron obtenidas por venopunción de la vena<sup>1</sup> cefálica<sup>2</sup> del antebrazo de cuatro donantes anónimos, de los grupos sanguíneos A, B, AB y O factor Rh positivo.

#### **Obtención de las muestras**

El donante debe estar, en esta oportunidad, sentado. Con el Brazo extendido, se rodea con un lazo de goma por encima del pliegue del codo. Se efectúa una ligadura que no comprima demasiado para interrumpir la circulación arterial, de esta manera, las venas se dilatan y se hacen más prominentes. Se realiza asepsia<sup>3</sup> de la piel y se punza

---

<sup>1</sup> Conducto o vaso sanguíneo que se encarga de llevar la sangre de los capilares sanguíneos hacia el corazón.

<sup>2</sup> La del brazo, que se aproxima al pliegue del codo.

<sup>3</sup> La asepsia se genera con la limpieza en la superficie de la Epidermis sector de extracción sanguínea, dándose la limitación si la muestra será utilizada para una pericia Alcohología la asepsia es mediante el empleo de solución fisiológica, si fuera para otro tipo de pericia como

con firmeza, empuñando jeringa y aguja. Si la aguja está adentro de la vena comienza a fluir sangre.

Puede obtenerse la muestra tirando con suavidad el émbolo de la jeringa. Después de haber llevado a cabo la venopunción se afloja el torniquete y se extrae la aguja. Se sostiene con firmeza una torunda de algodón seco sobre el sitio de extracción durante algunos minutos. Luego, se pone sobre este sector (lugar de extracción) una cinta adhesiva de material de papel, de color blanco, para impedir la salida de muestra..

La sangre contenida en la jeringa se coloca en los respectivos tubos de ensayos, siendo en esta ocasión, tubos de material plástico, esterilizados, de 5 ml, procediendo a la rotulación de fecha de extracción y se lleva cabo la tipificación del grupo sanguíneo.

Finalizada la tipificación, se obtienen los cuatro grupos sanguíneos reconocidos por el Sistema ABO, técnica actualmente empleada en los Laboratorios Pericial Científicos y de Genética Forense.

### **9.2.2 Medidas de Bioseguridad para la extracción**

Para realizar la extracción sanguínea por vena punción, se deberá completar las medidas acordes a la bioseguridad, con el fin de evitar la contaminación de la misma, acorde al sector de la toma.

En esta oportunidad el sector de extracción corresponde a la vena cefálica del antebrazo, por esa razón, se contemplan las siguientes medidas:

- Espacio físico de la toma de muestra, deberá estar esterilizado, en esta ocasión la mesada de ensayos periciales, procediendo a su limpieza con el empleo de alcohol al 96 % (medicinal) y papel símil absorbente. Luego, en la mesada se ubicara una porción de papel, de color gris, similar al fiambbrero<sup>4</sup>, ya que por encima de este se apoyara el brazo y los materiales a utilizar.
- Los utensillos de acero inoxidable, por ejemplo tijera, bisturí, pinza, etc., deberán tener el mismo tratamiento siendo estos embebidos con el alcohol al 96 % y posteriormente el secado, con el uso de papel símil absorbente, estufa

---

grupo y factor se permitirá la limpieza con alcohol al 96%. Todo ello con el fin de no producir interferencias en la faz pericial correspondiente.

<sup>4</sup> Llamado en forma vulgar por su color gris claro, utilizado en forma frecuente para la envoltura de alimentos.

de cultivo, o mediante fuego. Con ello, se conlleva a la desinfección de los mismos.

- El empleo de un par de guantes, de nitrilo, y el cambio de los mismos en cada toma de muestra, para evitar la contaminación biológica. Se realiza el lavado de manos con detergente no iónico, secado,
- Los tubos, de can, deben estar cerrado con tapón, de material plástico, a presión, hasta el momento del llenado, con el fin de impedir su contaminación con el medio.
- La asepsia del sector del antebrazo, donde se realizar la punción, con el uso de gasa estéril embebido en alcohol al 96 %. En esta oportunidad, la desinfección se efectúa con alcohol, debido a que la muestra es para fines de screening de calor y tiempo.

### **9.2.3 Técnica Orientación**

Reacción Colorimétrica **Adler**<sup>5</sup>.

Reacción Colorimétrica **Medeinger (Verde Malaquita)**<sup>6</sup>.

Reacción Colorimétrica **Aminofenazona**.

### **9.2.4 Técnica Específica**

Ensayo Inmunocromatográfico **HEM- CHECK-1**<sup>7</sup>.

## **9.3 Materiales**

### **9.3.1 Materiales de laboratorio**

- Tubo de Kan, de material plástico, transparente, de 5 ml de capacidad.
- Tapa a presión, de material plástico, de color blanco.
- Pipeta Paster, de 3 ml de capacidad.
- Hisopo de vástago de madera, con punta de algodón, esterilizado por oxido etílico.
- Gasa, estéril, de 10 x 10 (dimensión), resguardada en envoltorio de papel.
- Solución fisiologica.

---

<sup>5</sup> Trabajo de Método de Determinación de Antígenos de Grupos en Manchas Secas, Ob, cit..

<sup>6</sup> Trabajo de Método de Determinación de Antígenos de Grupos en Manchas Secas, Ob, cit..

<sup>7</sup> Trabajo de Método de Determinación de Antígenos de Grupos en Manchas Secas, Ob, cit..

- Cronometro.
- Termómetro.
- Estufa de cultivo, marca “San Jor”, modelo SL30C.
- Gradilla para tubos.
- Tijeras esterilizadas.
- Pinzas esterilizadas.
- Bisturí.
- Aguja de disección.
- Alcohol al 96 %<sup>8</sup>.
- Portaobjeto.
- Cubre objeto.
- Guantes de nitrilo, descartables.
- Barbijo.
- Cofia.
- Antiparras.
- Papel absorbente.
- Policubeta.
- Detergente no iónico<sup>910</sup>.
- Probeta Graduada.
- Vaso Precipitado.
- Lazo de Goma.
- Aguja
- Varilla de vidrio.
- Marcador indeleble.

### **9.3.2 Material Biológico**

- Sangre humana, del grupo Sanguíneo O factor Positivo, sin anticoagulante.

---

<sup>8</sup> De uso Medicinal.

<sup>9</sup> Indicado para el lavado de materiales de Laboratorio ideal para el uso posterior de muestras de fluidos Biológicos. Modo de uso emplear 10 ml de detergente en 1000 ml de agua destilada (1%).

<sup>10</sup> Marca BIOPACK, mantener a una temperatura de 15° C a 30° C, consistente en una solución líquida concentrada sin fosfatos biodegradables.

- Sangre humana, del grupo Sanguíneo A factor Positivo, sin anticoagulante.
- Sangre humana, del grupo Sanguíneo B factor Positivo, sin anticoagulante.
- Sangre humana, del grupo Sanguíneo AB factor Positivo, sin anticoagulante.

### **9.3.3 Reactivos**

- Adler.
- Medeinger (verde de malaquita).
- Aminofenazona.
- Bencidina.
- Cloruro de Sodio.
- Agua Destilada.
- Peróxido de Hidrogeno 10 % (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).
- Sueros Anti- A, Sueros Anti-B y Anti-D.
- Hem- Check.

## **9.4 Procedimiento**

### **9.4.1 Aspecto Colorimétrico**

Obtenida las muestras por extracción, se procede a discriminarlas por grupo sanguíneo y se da inicio a la primera medida de ensayo, el estudio de aspecto colorimétrico<sup>11</sup> de las muestras sometidas a diferentes temperaturas y tiempo de estadía.-

Definiendo el color de la mancha de la siguiente manera:

- **RI=** Rojo Intenso.
- **Rml=** Rojo menos Intenso.
- **RO=** Rojo Oscuro.
- **Roan=** Rojo Oscuro a negro.

Las manchas de sangre, cada una de ellas depositadas sobre el soporte seleccionado siendo un portaobjeto<sup>12</sup>, fueron sujeto de estudio a una Temperatura de 15° C, 20° C, 37° C, 45° C y 60° C y en un Tiempo de exposición de la mancha de 0 minutos, 20 minutos, 40 minutos, 60 minutos, 90 minutos y 140 minutos (Tabla Nro.1).

---

<sup>11</sup> El estudio del color mediante el empleo de reactivos que se despeñan mediante una tonalidad.

<sup>12</sup> Una fina placa de cristal sobre el cual se disponen objetos para su examen en el microscopio. Sus dimensiones típicas son de 75 mm x 25 mm.

Para la exposición de las muestras se utilizó una Estufa de Cultivo de Laboratorio, marca San Jor<sup>13</sup>, modelo SL30C, rango de temperatura de 20° C a 70° C, con una exactitud de 0,1° C y en relación a la muestra a temperatura de 15° C, se realizó mediante hornalla y termómetro.

Se puede determinar la siguiente relación de tiempo y temperatura temprana, al momento de la caída de la gota de sangre sobre el portaobjeto, es decir, en tiempo 0 minutos y en temperatura 15° C, 20° C, 37° C, 45° C y 60° C, se puede observar el color de la mancha como RI, de igual manera para el tiempo a 20 minutos, en una temperatura de 15° C y 20° C, predominando ese RI, no presentando cambio alguno a tenor color. Se produce el cambio de tonalidad a 37° C y 45° C con un Rml, siendo a 60° C el quiebre de color a RO.

A un tiempo de 40 minutos de exposición de temperatura 15° C y 20° C, el color de la muestra es Rml y a 37° C, 45° C y 60° C se divisa un color a RO. Cuando el tiempo transcurre a 60 minutos, la temperatura de 15° C y 20° C la coloración es Rml, a 37° C y 45° C la gama es RO y al llegar la temperatura a 60° C, finaliza con el quiebre total de la mancha a ROan, ya manifestándose un cambio abrupto en la muestra.

Para la temperatura de 15° C, 20° C y 37° C, en tiempo de duración de 90 minutos, la muestra presenta un color RO y llega a ROan, a 45° C y 60° C, y finalizando a 140 minutos de exposición la muestra a 15° C, 20° C, 37° C, 45° C y 60° C, produce un cambio rotundo del color a ROan, siendo la escala más alta, ejecutándose un tono degradado.

#### **9.4.2 Ensayo de sensibilidad Orientativo**

Se realiza el estudio de sensibilidad de los Test Orientativos Adler, Medeinger y Aminofenazona, en la detección de sangre diluida sobre varios soportes de recolección, los materiales para el levantamiento consisten en los insumos de empleo diario en la labor pericial, como es la gasa estéril y el hisopo de vástago de madera con punta de algodón esterilizado.

---

<sup>13</sup> Uso en Laboratorio de Alta Complejidad, el aparato donde se incuban bacterias para diversos análisis en el laboratorio. Las nuevas estufas de cultivo están fabricadas bajo un riguroso control de calidad y utilizando la última tecnología disponible. El amplio rango de temperatura en el que pueden trabajar aporta a las estufas gran versatilidad y funcionalidad. Tienen una cámara interior de acero inoxidable con soporte para estantes fácilmente desmontable o que facilita la limpieza de la cámara, doble puerta.

Las diluciones seriadas base 10 a partir de 1/10 con solución fisiológica, para cada uno de los grupos sanguíneo, las diluciones fueron:

- 1/100.
- 1/500.
- 1/1000.
- 1/5000.
- 1/10000.

Al observar los resultados de efectividad de los Test, se puede demostrar que en el Test de Adler dio positivo hasta e inclusive 1/500 para los grupos AB y O, en soporte gasa y hisopo estéril y el grupo A en gasa y hisopo estéril hasta e inclusive 1/5000, el grupo B hasta e inclusive 1/1000 para gasa y hisopo estéril (Tabla Nro. 2).

Se demuestra que en el Test de Medeinger dio positivo hasta e inclusive 1/500 para los grupos B, AB y O, en soporte gasa y hisopo estéril y el grupo A en hisopo estéril hasta e inclusive 1/1000 y en gasa hasta 1/5000 (Tabla Nro. 2).

En el Test de Aminofenazona dio positivo hasta e inclusive 1/1000 para el grupo B, en soporte gasa y hisopo estéril y los grupos A, AB y O en gasa y hisopo estéril hasta e inclusive 1/5000 (Tabla Nro. 3).

Todo indicaría que el Test de Aminofenazona resulto ser una muy buena prueba de orientación en disolución de muestra sanguínea. Se debe dejar asentado que el Test de Aminofenazona, no es un ensayo de rigor en la actualidad, ya que se, solo se efectúan estudio de orientación de Adler y/o Medeinger.

Al obtener un resultado negativo de una prueba de orientación, se finaliza la pericia, la metodología de estudio de una mancha de sangre, se da comienzo con la orientación para saber si esa muestra, es sangre, si lo es, se procede, a la investigación química de especificidad, para saber si es humana y si hay suficiente muestra seguiremos el estudio con la tipificación, que es ubicar la misma en el Sistema ABO, es decir, a qué grupo sanguíneo pertenece, si la misma no contiene una cantidad apropiada para su estudio se resguardara para estudios de alta complejidad como lo es el ADN.

#### **9.4.3 Test de sensibilidad Específico**

La técnica de Especificidad está a cargo del Ensayo inmunocromatográfico denominado HEM-CHECK, dicho examen nos dará como resultado que la muestra es sangre humana, previo prueba orientativo con resultado positivo (Tabla Nro. 4).

En esta oportunidad, se observara la sensibilidad de HEM-CHECK, en la detección de sangre diluida sobre varios soportes de recolección, los materiales para el levantamiento consisten en los insumos de empleo diario en la labor pericial, como es la gasa estéril y el hisopo de vástago de madera con punta de algodón esterilizado.

Las diluciones seriadas base 10 a partir de 1/10 con solución fisiologica, para cada uno de los grupos sanguíneo, las diluciones fueron:

- 1/100.
- 1/500.
- 1/1000.
- 1/5000.
- 1/10000.

Una vez diluidas las muestras en los volúmenes descriptos anteriormente, se deberá embeber con el empleo de una pipeta Paster de 3ml., los soportes predispuestos, gasa y hisopo estéril.

Dejar al secado a la corriente de aire del medio ambiente y luego, se tomará una porción, utilizando para la misma tijera y pinza esterilizada, posteriormente se los ubica en la solución de extracción (buffer salino fosfato 0,1 M), para su macerado<sup>14</sup>, y finalmente con la ayuda de la pipeta que contiene el ensayo, se traslada la solución macerada adicionando algunas gotas sobre el orificio de la capsula, contenedora de la tira reactiva inmunocromatográfica.

A medida que la muestra en ensayo corre a través del dispositivo absorbente, el conjugado anticuerpo – colorante se une al antígeno hemoglobina formando un complejo antígeno – anticuerpo. Este complejo se une al anticuerpo de hemoglobina en la zona de reacción del test produciendo una banda de color rosado. En ausencia de hemoglobina, no se observará línea alguna en la zona de test. La mezcla de reacción continúa corriendo a través del dispositivo absorbente. El conjugado libre se une a los reactivos en

---

<sup>14</sup> Dice ser el reposo de la muestras en solución, a la espera de su continuidad química.

la zona de control produciendo una banda de color rosado, demostrando así los reactivos funcionan correctamente.

Los resultados de sensibilidad de HEM-CHECK, como positivo hasta e inclusive 1/5000 para los grupos sanguíneos AB y O, en soporte gasa y hisopo estéril y el grupo grupo B hasta e inclusive 1/1000, en gasa y hisopo estéril y para el grupo sanguíneo A hasta e inclusive 1/5000 en gasa y 1/1000 para hisopo estéril (Tabla Nro. 4).

Comparando los resultados con la Tabla nro. 2 y Tabla nro. 3, con los expuestos en la Tabla nro. 4, se denotara que existen coincidencia a la finalización del estudio químico forense, especialmente entre la Tabla nro. 3 y la Tabla nro.4, dentro de las diluciones de los diferentes grupos sanguíneos, se obra la resultancia positiva de mayor partida de muestras.

Asimismo, se debe tener en cuenta que el screening de HEM-CHEK posee una alta sensibilidad, ya que es un reactivo clínico empleado para la búsqueda de traza<sup>15</sup> de sangre en materia fecal.

Dicha consecuencia, produce en la deducción técnica forense, que si la muestra no es sangre, se finaliza el estudio, causando un entorpecimiento en la investigación química. La Técnica de Aminofenazona, no usada como técnica cabecera, abre una ventana de investigación alternativa al momento del estudio empírico.

#### **9.4.4 Ensayo de Test Orientativo de las muestras sanguíneas sometidas a diferentes temperaturas y tiempo de estadía**

Se formaliza el estudio de Test Orientativos Adler, Medeinger y Aminofenazona, a muestras sanguíneas reconocidas sometidos a estudio a una Temperatura de 15° C, 20° C, 37° C, 45° C y 60° C y en un Tiempo de exposición de la mancha de 0 minutos, 20 minutos, 40 minutos, 60 minutos, 90 minutos y 140 minutos. Esta experimentación se realiza en forma previa, al ensayo final que posteriormente se depondrá.

Como primer término, se da inicio con la Técnica de Adler (Tabla nro.5), se expone las manchas hemáticas a temperatura y tiempo establecido, y luego se realiza la extracción mediante el empleo de dos materiales conocidos como es la gasa y hisopo

---

<sup>15</sup> La mínima cantidad, no se observa a simple vista debiendo usar un microscopia de amplio espectro.

estéril. Siempre tomando las medidas de bioseguridad, para evitar la contaminación biológica de las muestras, con el empleo de guantes de nitrilo, realizando el cambio en cada toma, la esterilización de tijera, bisturí, pinza, etc.

Cabe destacar, que la experimentación de las muestras se llevan a cabo en un lugar controlado, teniendo el debido recaudo de higiene y esterilidad, que ostenta un Laboratorio, materia diferente es cuando se actúa en el LDH (explicar), donde el lugar carece de las medidas de bioseguridad necesaria. Como se tiene conocimiento, en el lugar donde se produjo un hecho delictivo carece de toda preservación, ya que entran en juego otros factores, como el ambiental, humano y los externos.

Continuando con el desempeño técnico, se dará comienzo al levantamiento de las muestras en esta oportunidad con gasa y hisopo estéril, definiendo las conclusiones como:

- Positivo (+)
- Negativo (-)

Dando apertura al Test de Adler con las siguientes deducciones (Tabla nro. 5):

A 0 minutos, como se ha informado anteriormente, se toma al momento de la caída de las gotas de sangre sobre el portaobjeto, expuesta a T 15° C, 20° C, 37° C, 45° C y 60° C, con una resultancia Positiva (+), a los 20 minutos a una T 15° C, 20° C, 37° C, con resultado Positivo (+) y en forma Negativa (-) a una T de 45°C y 60°C.

Un Ti de 40 minutos de prolongación, en forma Positiva (+) a una T de 15°C y 20°C y en forma Negativa (-) para T 37°C, 45°C y 60°C. En último lugar, los Ti de exposición de 60 minutos, 90 minutos y 140 minutos, con una resultancia Negativa (-) a T de T 15° C, 20° C, 37° C, 45° C y 60° C.

A la postre con el Test de Medeinger con las siguientes deducciones (Tabla nro. 6):

A 0 minutos, como se ha informado anteriormente, se toma al momento de la caída de las gotas de sangre sobre el portaobjeto, expuesta a T 15° C, 20° C, 37° C, 45° C y 60° C, con una resultancia Positiva (+), a los 20 minutos a una T 15° C, 20° C, 37° C y 45°C, con resultado Positivo (+) y en forma Negativa (-) a una T de 60°C.

Un Ti de 40 minutos de prolongación, en forma Positiva (+) a una T de 15°C y 20°C y 37°C, en forma Negativa (-) para T de 45°C y 60°C. Finalmente, los Ti de exposición de 60 minutos, 90 minutos y 140 minutos, con una resultancia Negativa (-) a T de T 15° C, 20° C, 37° C, 45° C y 60° C.

Últimamente con el Test de Aminofenazona con las siguientes deducciones (Tabla nro. 7):

A 0 minutos y 20 minutos, se toma al momento de la caída de las gotas de sangre sobre el portaobjeto, expuesta a T 15° C, 20° C, 37° C, 45° C y 60° C, con una resultancia Positiva (+).

Un Tiempo de 40 minutos de prolongación, en forma Positiva (+) a una T de 15°C y 20°C, 37°C y 45°C, en forma Negativa (-) para T de 60°C. El Ti de exposición de 60 minutos con un resultado Positivo (+) a una T de 15°C, 20°C, 37°C y 45°C, en forma Negativa (-) para T de 60°C, a 90 minutos de exhibición a una T de 15° C, 20° C y 37° C, en forma Positiva (+) y Negativa (-) a T de 45°C y 60° C. En definitiva a 140 minutos solo en carácter de Positivo (+) a T 15°C y Negativo (-) para los restantes T.

Las muestras analizadas son resguardadas, primeramente secadas en un ambiente donde corra el aire, como está estipulado en los instructivos pertinente posteriormente se depositara en un sobre, de papel, de color blanco, tipo carta, material habitual de cada portafolio del perito actuante, en forma individual, los cuales serán rotulados y se realizara su apertura a una semana de resguardo. Transcurrido el tiempo establecido, se procederá a estudio como toda muestra remitida al Laboratorio para la búsqueda de manchas hemáticas.

#### **9.4.5 Ensayo de Test Especifico de las muestras sanguíneas sometidas a diferentes temperaturas y tiempo de estadía**

Se determina el estudio de técnica de Especificidad estando a cargo del Ensayo inmunocromatográfico denominado HEM-CHECK, dicho examen nos dará como resultado que la muestra es sangre humana, previo prueba orientativa con resultado positivo.

Proseguirá la exposición de la mancha hemática a temperatura y tiempo establecido, y luego se realiza la extracción mediante el empleo de dos materiales conocidos como es la gasa y hisopo estéril. Siempre tomando las medidas de bioseguridad, para evitar la contaminación biológica de las muestras, con el empleo de guantes de nitrilo, realizando el cambio en cada toma, la esterilización de tijera, bisturí, pinza, etc.

El Test Especifico HEM-CHECK, a muestras sanguíneas reconocidas sometidos a estudio a una T de 15° C, 20° C, 37° C, 45° C y 60° C y en un Ti de exposición de la mancha de 0 minutos, 20 minutos, 40 minutos, 60 minutos, 90 minutos y 140 minutos.

Esta experimentación se realiza en forma previa, al ensayo final que posteriormente se depondrá.

Dando comienzo a la experiencia con las siguientes deducciones (Tabla nro. 8):

A 0 minutos y 20 minutos, se toma al momento de la caída de las gotas de sangre sobre el portaobjeto, expuesta a T 15° C, 20° C, 37° C, 45° C y 60° C, con una resultancia Positiva (+).

Un Ti de 40 minutos y 60 minutos de prolongación, en forma Positiva (+) a una T de 15°C y 20°C, 37°C y 45°C, en forma Negativa (-) para T de 60°C., a 90 minutos de exhibición a una T de 15° C, 20° C y 37° C, en forma Positiva (+) y Negativa (-) a T de 45°C y 60° C. y se define a 140 minutos en carácter Negativo (-) para las T 15° C, 20° C, 37° C, 45° C y 60° C.

Comparando los resultados con la Tabla nro. 5, Tabla nro. 6 y Tabla nro. 7, con los expuestos en la Tabla nro. 8, se denotara que existen coincidencia a la finalización del screening, en forma particular entre la Tabla nro. 7 y la Tabla nro. 8, se puede apreciar que la Temperatura y el tiempo de exposición de las muestras dan una consecuencia de forma concomitancia, a las expuestas en la Tabla nro. 3 y Tabla nro. 4.

### **9.5 Análisis de las muestras resguardadas**

Una vez finalizado el tiempo predeterminado de una semana de conservación de las muestras analizadas, se da comienzo a los ensayos orientativos. En relación al tiempo de resguardo de las muestras, es tomado en cuenta el tiempo de estadía de una muestra que ingresa al Laboratorio Pericial, mínimo una semana de espera para su análisis químico.

El proceder del ensayo se plasmara, con el screening orientativo para el Test de Adler, Medeinger y Aminofenazona, en forma individual de muestra a saber, se analizara primeramente la muestra gasa estéril, la cual contiene la extracción procesada en un tiempo de 0 minutos, 20 minutos, 40 minutos, 60 minutos, 90 minutos y 140 minutos, y expuesta a una temperatura de 15°C, 20°C, 37°C, 45°C y 60°C, luego el hisopo estéril, de igual manera que la gasa. Al culminar el estudio orientativo, se efectuara el ensayo específico HEM-CHECK, en forma individual por cada muestra.

### **9.5.1 Apertura y análisis del material resguardado**<sup>16</sup>

En la Tabla nro. 09, se origina la primera apertura del material para el Ensayo de Test Orientativo de Adler de las muestras sanguíneas que fueron sometidas a diferentes temperaturas y tiempo de estadía, las cuales se conservaron en el Laboratorio por una semana hasta su apertura, en soporte Gasa estéril.

Antes de dar comienzo al estudio químico, se efectúa la esterilización de los utensillos con el empleo de alcohol al 96 % y posterior secado, una vez finalizado, se realiza la toma de una muestra representativa, para su investigación con las siguientes conclusiones; con resultado Positivo (+) para las muestras obtenidas en Ti 0 minutos a una T de 15° C, 20° C, 37° C, 45° C y 60° C, a 20 minutos a una T de 15° C y 20° C con resultancia Positiva (+) y en forma Negativa (-) a una T de 37° C, 45° C y 60° C, a 40 minutos con un resultado Positivo (+) solo a T de 15°C y Negativo (-) para las T restantes. Y en el Ti de 60 minutos, 90 minutos, y 140 minutos las muestras ofrendan una conclusión Negativa (-) para la totalidad de las T.

En la Tabla nro. 10, se realiza el Ensayo de Test Especifico de HEM-CHECK de las muestras sanguíneas que fueron sometidas a diferentes temperaturas y tiempo de estadía, las cuales se conservaron en el Laboratorio por una semana hasta su apertura, en soporte correspondiente a gasa estéril.

Estas muestras que se procesaron (Tabla nro. 10) corresponde a las analizadas en el Test de Orientación Adler (Tabla nro. 09), que una vez finalizado su estudio, se da comienzo al ensayo especifico para sangre humana. Derivando a la previa esterilización de los materiales a emplear, de igual forma se toma una muestra representativa, para su exploración, con los siguientes resultados; A un Ti de 0 minutos con una conclusión Positiva (+) a T de 15° C, 20° C, 37° C, 45° C y 60° C, a 20 minutos con resultancia Positiva (+) a T 15° C, 20° C y 37° C y Negativo (-) para T 45°C y 60°C, en un Ti de 40 minutos Positivo (+) a T 15° C y 20° C, en forma Negativa (-) a T 37° C, 45°C y 60°C y

---

<sup>16</sup> Trabajo de Método de Determinación de Antígenos de Grupos en Manchas Secas, Ob, cit..

finalmente a Ti , a 60 minutos, de 90 minutos y 140 minutos con resultado Negativo (-) para la totalidad de T.

En la Tabla nro. 11, se origina la primera apertura del material para el Ensayo de Test Orientativo de Adler de las muestras sanguíneas que fueron sometidas a diferentes temperaturas y tiempo de estadía, las cuales se conservaron en el Laboratorio por una semana hasta su apertura, en soporte Hisopo estéril.

Antes de dar comienzo al estudio químico, se efectúa la esterilización de los utensillos con el empleo de alcohol al 96 % y posterior secado, una vez finalizado, se realiza la toma de una muestra representativa, para su investigación con las siguientes conclusiones; con resultado Positivo (+) para las muestras obtenidas en Ti 0 minutos a una T de 15° C, 20° C, 37° C, 45° C y 60° C, a 20 minutos a una T de 15° C, 20° C y 37° C con resultancia Positiva (+) y en forma Negativa (-) a una T de 45° C y 60° C, a 40 minutos con un resultado Positivo (+) solo a T de 15°C y Negativo (-) para las T restantes. Y en el Ti de 60 minutos, 90 minutos y 140 minutos las muestras dan a conocer una resultancia Negativa (-) para la totalidad de las T.

En la Tabla nro. 12, se realiza el Ensayo de Test Especifico de HEM-CHECK de las muestras sanguíneas que fueron sometidas a diferentes temperaturas y tiempo de estadía, las cuales se conservaron en el Laboratorio por una semana hasta su apertura, en soporte correspondiente a hisopo estéril.

Estas muestras que se procesaron (Tabla nro. 11) corresponde a las analizadas en el Test de Orientación Adler (Tabla nro. 12), que una vez finalizado su estudio, se da comienzo al ensayo especifico para sangre humana. Derivando a la previa esterilización de los materiales a emplear, de igual forma se toma una muestra representativa, para su exploración, con los siguientes resultados; A un Ti de 0 minutos con una conclusión Positiva (+) a T de 15° C, 20° C, 37° C, 45° C y 60° C, a 20 minutos con resultancia Positiva (+) a T 15° C, 20° C, 37°C y 45°C y Negativo (-) a T 60°C, en un Ti de 40 minutos Positivo (+) a T 15° C y 20° C, en forma Negativa (-) a T 37° C, 45°C y 60°C, a un Ti de 60 minutos de forma Positiva (+) a T 15° C y mientras que el resto de las temperaturas en forma Negativa (-), por último a un Ti de 90 minutos y 140 minutos con resultado Negativo (-) para la totalidad de las T.

En la Tabla nro. 13, se origina la primera apertura del material para el Ensayo de Test Orientativo de Medeinger de las muestras sanguíneas que fueron sometidas a diferentes temperaturas y tiempo de estadía, las cuales se conservaron en el Laboratorio por una semana hasta su apertura, en soporte Gasa estéril.

Antes de dar comienzo al estudio químico, se efectúa la esterilización de los utensillos con el empleo de alcohol al 96 % y posterior secado, una vez finalizado, se realiza la toma de una muestra representativa, para su investigación con las siguientes conclusiones; con resultado Positivo (+) para las muestras obtenidas en Ti 0 minutos a una T de 15° C, 20° C, 37° C, 45° C y 60° C, a 20 minutos a una T de 15° C, 20° C, 37° C y 45° C con resultancia Positiva (+) y en forma Negativa (-) a una T 60° C, a 40 minutos con un resultado Positivo (+) a T de 15°C y 20° C, Negativo (-) para las T restantes. Y en el Ti de 60 minutos, 90 minutos y 140 minutos las muestras reflejan una resultancia Negativa (-) para la totalidad de las T restantes.

En la Tabla nro. 14, se realiza el Ensayo de Test Especifico de HEM-CHECK de las muestras sanguíneas que fueron sometidas a diferentes temperaturas y tiempo de estadía, las cuales se conservaron en el Laboratorio por una semana hasta su apertura, en soporte correspondiente a gasa estéril.

Estas muestras que se procesaron (Tabla nro. 13) corresponde a las analizadas en el Test de Orientación Medeinger (Tabla nro. 14), que una vez finalizado su estudio, se da comienzo al ensayo especifico para sangre humana. Derivando a la previa esterilización de los materiales a emplear, de igual forma se toma una muestra representativa, para su exploración, con los siguientes resultados; A un Ti de 0 minutos reacciona en forma Positiva (+) para la totalidad de las T y 20 minutos con una conclusión Positiva (+) a T de 15° C, 20° C, 37° C, 45° C y Negativa (-) a T 60°C, a 40 minutos con resultancia Positiva (+) a T 15° C, 20° C y 37° C, y Negativo (-) para T 45° C y 60°C, a 60 minutos Positivo (+) a T 15°C y Negativo (-) para las restantes T y finalmente a Ti de 90 minutos y 140 minutos con resultado Negativo (-) para la totalidad de T.

En la Tabla nro. 15, se origina la primera apertura del material para el Ensayo de Test Orientativo de Medeinger de las muestras sanguíneas que fueron sometidas a

diferentes temperaturas y tiempo de estadía, las cuales se conservaron en el Laboratorio por una semana hasta su apertura, en soporte Hisopo estéril.

Antes de dar comienzo al estudio químico, se efectúa la esterilización de los utensillos con el empleo de alcohol al 96 % y posterior secado, una vez finalizado, se realiza la toma de una muestra representativa, para su investigación con las siguientes conclusiones; con resultado Positivo (+) para las muestras obtenidas en Ti 0 minutos a una T de 15° C, 20° C, 37° C, 45° C y 60° C, a 20 minutos a una T de 15° C, 20° C y 37° C con resultancia Positiva (+) y en forma Negativa (-) a una T 45° C y 60° C, a 40 minutos con un resultado Positivo (+) a T de 15°C y forma Negativo (-) para las T , 20° C y 37°C, 45°C y 60°C. Y en el Ti de 60 minutos, 90 minutos y 140 minutos las muestras reflejan una resultancia Negativa (-) para la totalidad de las T restantes.

En la Tabla nro. 16, se realiza el Ensayo de Test Especifico de HEM-CHECK de las muestras sanguíneas que fueron sometidas a diferentes temperaturas y tiempo de estadía, las cuales se conservaron en el Laboratorio por una semana hasta su apertura, en soporte correspondiente a hisopo estéril.

Estas muestras que se procesaron (Tabla nro. 15) corresponde a las analizadas en el Test de Orientación Medeinger (Tabla nro. 16), que una vez finalizado su estudio, se da comienzo al ensayo especifico para sangre humana. Derivando a la previa esterilización de los materiales a emplear, de igual forma se toma una muestra representativa, para su exploración, con los siguientes resultados; A un Ti de 0 minutos reacciona en forma Positiva (+) para la totalidad de las T, a 20 minutos con una conclusión Positiva (+) a T de 15° C, 20° C, 37° C, 45° C y Negativo (-) a T 60° C, a 40 minutos con resultancia Positiva (+) a T 15° C y 20° C y Negativo (-) para T 37° C y 45° C 60°C, a un Ti de 60 minutos, en forma Positiva (+) y Negativo (-) el restante de las T, y en último lugar 90 minutos y 140 minutos con resultado Negativo (-) para la totalidad de T 15°C, 20°C, 37°C, 45°C y 60°C.

En la Tabla nro. 17, se origina la primera apertura del material para el Ensayo de Test Orientativo de Aminofenazona de las muestras sanguíneas que fueron sometidas a diferentes temperaturas y tiempo de estadía, las cuales se conservaron en el Laboratorio por una semana hasta su apertura, en soporte Gasa estéril.

Antes de dar comienzo al estudio químico, se efectúa la esterilización de los utensillos con el empleo de alcohol al 96 % y posterior secado, una vez finalizado, se realiza la toma de una muestra representativa, para su investigación con las siguientes conclusiones; con resultado Positivo (+) para las muestras obtenidas en Ti 0 minutos reacciona en forma Positiva (+) para la totalidad de las T, a 20 minutos en forma Positiva (+) a T 15° C, 20° C, 37° C, 45° C y en forma Negativa (-) a 60° C, a 40 minutos con un resultado Positivo (+) a T de 15°C, 20° C y 37°C, en forma Negativo (-) para la T 45°C y 60°C, 60 minutos Positiva (+) a T 15°C y 20°C y Negativo (-) a T 37°C, 45°C y 60 °C y finalmente a un Ti de 90 minutos y 140 minutos, con conclusión Positiva (+) para una T de 15°C y Negativo (-) para la totalidad de T restantes.

Y en la Tabla nro. 18, se realiza el Ensayo de Test Especifico de HEM-CHECK de las muestras sanguíneas que fueron sometidas a diferentes temperaturas y tiempo de estadía, las cuales se conservaron en el Laboratorio por una semana hasta su apertura, en soporte correspondiente a gasa estéril.

Estas muestras que se procesaron (Tabla nro. 17) corresponde a las analizadas en el Test de Orientación Aminofenazona (Tabla nro. 18), que una vez finalizado su estudio, se da comienzo al ensayo específico para sangre humana. Derivando a la previa esterilización de los materiales a emplear, de igual forma se toma una muestra representativa, para su exploración, con los siguientes resultados; A un Ti de 0 minutos reacciona en forma Positiva (+) para la totalidad de las T, a 20 minutos con una conclusión Positiva (+) a T de 15° C, 20° C, 37° C, 45° C y 60° C, a 40 minutos con resultancia Positiva (+) a T 15° C, 20° C y 37° C y Negativo (-) para T y 45° C y 60°C, en Ti 60 minutos en forma Positiva (+) para las T 15°C y 20°C, y Negativo (-) a T 37°C, 45°C y 60°C, y por último a Ti 90 minutos y 140 minutos con resultado Positivo (+) a T 15° C y en forma Negativo (-) para el restante de las T.

En la Tabla nro. 19, se origina la primera apertura del material para el Ensayo de Test Orientativo de Aminofenazona de las muestras sanguíneas que fueron sometidas a diferentes temperaturas y tiempo de estadía, las cuales se conservaron en el Laboratorio por una semana hasta su apertura, en soporte Hisopo estéril.

Antes de dar comienzo al estudio químico, se efectúa la esterilización de los utensillos con el empleo de alcohol al 96 % y posterior secado, una vez finalizado, se

realiza la toma de una muestra representativa, para su investigación con las siguientes conclusiones; con resultado Positivo (+) para las muestras obtenidas en Ti 0 minutos Positiva (+) para la totalidad de T 15° C, 20° C, 37° C, 45° C y 60° C, a 20 minutos en forma Positiva (+) para la totalidad de T 15° C, 20° C, 37° C y 45° C y en forma Negativa (-) a T 60° C, a 40 minutos con un resultado Positivo (+) a T de 15°C, 20° C, 37°C y 45°C, Negativo (-) a T 60°C, a un Ti de 60 minutos Positivo (+) a 15°C, 20°C, 37°C y 45°C y Negativo (-) a T 60°C, finalmente a un Ti de 90 minutos y 140 minutos, con conclusión Positivo (+) a una T de 15° C y Negativo (-) para la totalidad de T restantes.

Y en la Tabla nro. 20, se realiza el Ensayo de Test Especifico de HEM-CHECK de las muestras sanguíneas que fueron sometidas a diferentes temperaturas y tiempo de estadía, las cuales se conservaron en el Laboratorio por una semana hasta su apertura, en soporte correspondiente a hisopo estéril.

Estas muestras que se procesaron (Tabla nro. 19) corresponde a las analizadas en el Test de Orientación Aminofenazona (Tabla nro. 20), que una vez finalizado su estudio, se da comienzo al ensayo específico para sangre humana. Derivando a la previa esterilización de los materiales a emplear, de igual forma se toma una muestra representativa, para su exploración, con los siguientes resultados; A un Ti de 0 minutos Positiva (+) para la totalidad de T 15° C, 20° C, 37° C, 45° C y 60° C, a 20 minutos con una conclusión Positiva (+) a T de 15° C, 20° C, 37° C, 45° C y Negativo (-) a T 60° C, a 40 minutos Positiva (+) a 15°C, 20°C y 37°C y Negativo (-) a T de 45°C y 60°C, a 60 minutos con resultancia Positiva (+) a T 15° C, 20° C, 37°C y 45°C y Negativo (-) a T 60°C, y a Ti 90 minutos y 140 minutos con conclusión Positivo (+) a una T de 15° C y Negativo (-) para la totalidad de T restantes.

Una vez, finalizado los diferentes ensayos científicos se denotan discrepancia entre los Test Orientativos Adler y Medeinger, con el Test Especifico HEM-CHECK. Debido a que las muestras, gasa y hisopo estéril, expuestas al análisis de orientación para sangre de las Técnicas de Adler y Medeinger su positividad es de minoría, mientras que las mismas muestras fueron motivo de pericia a base del Test Especifico para Sangre Humana, otorgando un resultado en forma mayoritario.

Se destaca que los ejemplares, reaccionan en su gran mayoría al Test Especifico y no así con los orientativos. Si estuviéramos en presencia de una pericia del carácter

judicial, nos encontraríamos con un gran inconveniente, ya que si ubicamos a esas mismas muestras enmarcadas dentro de una investigación penal preparatoria, dicho screening hubiera finalizado al comienzo de la misma.

Ya como se ha informado en párrafos anteriores, el análisis de la muestras en la búsqueda de sangre, tiene un recorrido prefijado que es primero, el análisis de la muestra con el Test orientativo, si el mismo da positivo la reacción, se pasara a la siguiente etapa que es, saber si esa mancha que hoy se conoce como sangre, es humana, con el estudio químico inmunocromatográfico conocido como HEM-CHECK, si da positiva la reacción, pasamos a la tipificación, es decir, a qué grupo sanguíneo pertenece dicha muestra y finalmente la aptitud de la mancha reconocida como Sangre Humana para el estudio de alta complejidad como lo es el ADN<sup>17</sup>.

Cuando el resultado es el no desea, Negativo, ahí se da por finalizado la investigación química y se informa que esa muestra no es sangre, concluyendo así con la pericia química.

En cuanto a los resultados obtenidos con el Test de Orientación de Aminofenazona fueron superiores en comparación de los otros dos restantes test, y un equilibrio de conclusiones Positivas (+) del Test específico HEM-CHECK, demarcando una inclinación favorable a la Técnica Orientativa de Aminofenazona.

Se logra llegar a otras conclusiones, que plantean otros desafíos periciales, además del tiempo de exposición y la temperatura, siendo el planteo principal de los cambios de una mancha de sangre, que de antemano se reconoce como tal, y que es obligada a cambios de estado, como por ejemplo de color, contaminación y/o degradación.

---

<sup>17</sup> **El material biológico preparado para los estudios de ADN**, Curso La tecnología del ADN aplicada a la Justicia, Iudica, Celia. 2001.

## **9.6 Contaminación**<sup>18</sup>

Es considerada como la alteración nociva, del estado natural de un medio, como consecuencia de la introducción de un agente totalmente ajeno a ese medio, causando inestabilidad, desorden, daño en un estado ecológico, en un medio físico, o en un ser de vida. El contaminante puede ser una sustancia química, energía, sonido, calor, incluso un gen.

En el lugar de los hechos, donde ha acaecido un delito nos encontramos con muestras biológica y no biológica, las mismas poseen el carácter de evidencia, estas deben ser debidamente identificadas y resguardadas para evitar una posible contaminación biológica, como lo es la contaminación humana.

La contaminación biológica se puede definir como un aporte extra de material genético al existente en la evidencia. Este hecho puede originar, una variada cantidad de material genético y en un mayor potencial la reducción del material genético, el de relevancia para esclarecer el hecho.

La contaminación de una muestra se puede ocasionar antes del levantamiento de la evidencia, durante el proceso de secuestro, remisión al laboratorio y en el propio laboratorio para su análisis.

Inicialmente, cuando se tiene conocimiento de un hecho delictivo, las primeras personas en llegar al LDH no es el personal Técnico Científico, sino un vecino o familiar, quien ingresara por ejemplo al domicilio, tal vez hasta forzando una puerta para su entrada, y será el encargado de llamar a la asistencia médica, según el caso delictivo, posteriormente a la policía de seguridad, quienes conjuntamente ingresaran nuevamente al lugar. Una vez finalizada la requisa en el lugar, la policía de seguridad convocara al personal Técnico Científico por especialidad según lo amerite el hecho.

Apreciándose que el camino de la contaminación es muy amplio, ya que es inevitable una multiplicidad genética, siendo que esta oportunidad se da como ejemplo un lugar cerrado como lo es un domicilio, ampliemos el abanico si se trata de un

---

<sup>18</sup> **EI ADN o material genético: qué conocemos y para qué nos sirve.** Curso La tecnología del ADN aplicada a la Justicia, Iudica, Celia. 2001.

descampado, un baldío, una vereda de alto tránsito y sumado ello la temperatura y tiempo de exposición de la muestra biológica.

Otro tipo de contaminación, realmente preocupante aunque evitable, es la que se produce por descuido, negligencia o impericia, logrando esta última un desequilibrio profesional, ya que, el desconocimiento a la hora de ejercer la tarea de perito es irreprochable su no conocimiento, debiendo tener como norma presente en su carrera las técnicas y los modos en el accionar, no aceptando su tosquedad, al momento del levantamiento, resguardo y remisión del material al laboratorio.

Cuando se analizan muestras que presentan este tipo de contaminación, los resultados que se obtienen son realmente confusos y sumamente desconcertantes, originando resultados y conclusiones que pueden llegar a ser incorrectos.

Por último, otra posibilidad de contaminación sobre la muestra puede darse en el propio laboratorio, bien por el material genético existente de previos estudios o bien a partir de material biológico del personal que allí trabaja.

Por tal motivo, es de extrema urgencia tomar las medidas de bioseguridad implementadas en relación a la esterilización de los elementos e utensilios, como la asepsia de mesadas, y el uso de materiales descartables para el caso.

### **9.7 Degradación**<sup>19</sup>

Otro posible e importante problema es la degradación de la muestra. Se define como la disminución gradual de cualidades o características, en esta ocasión de una muestra biológica.

Al igual que se comentó anteriormente, existe un tipo de degradación que no se puede evitar. Cuando se recogen evidencias que han estado expuestas durante un cierto período de tiempo a condiciones naturales de humedad ambiental, temperatura,

---

<sup>19</sup> **La Prueba del ADN en Medicina Forense**, M. Begoña Martínez Jarreta Profesora Titular de Medicina Legal y Forense, Directora del Laboratorio de Genética Forense, Facultad de Medicina, Universidad de Zaragoza, Edición Masson S.A., Barcelona- España, 1999, 342 p.

fenómenos meteorológicos, acción de insectos, etc., es muy probable que esa muestra presente un cierto grado de degradación natural.

Es de moneda corriente, aunque por suerte cada vez menos ya que hay normas vigentes para cambiar el sistema, el envío de muestras húmedas, en bolsas, de material de nylon, cerradas lo cual crea un ambiente muy propio para la proliferación bacteriana, con la subsiguiente degradación del material genético.

Este problema quedaría subsanado en su mayor parte con el envío de la muestra, previo secado en un ambiente donde circule el aire, a temperatura ambiente. En otras ocasiones, se realiza la remisión de muestras sanguíneas líquidas sin refrigerar o dejando pasar períodos de tiempo demasiado largos entre la toma y la llegada al laboratorio, hecho que también favorece la degradación de la evidencia.

Cuando se habla de ADN degradado se hace referencia a un material genético que por acción, generalmente bacteriana, ha sido fragmentado de forma inespecífica por la actuación de nucleasas.-

Una de las importantes ventajas que aporta la técnica de la PCR<sup>20</sup> es la capacidad para poder amplificar material genético que se encuentre parcialmente degradado; no obstante, cuando este nivel de degradación es muy elevado la amplificación de marcadores genéticos clásicos por la técnica de la PCR, dentro del campo forense, es desfavorable.

Existe otra serie de efectos que pueden dañar el material genético. Así pues, la exposición de las muestras a los rayos ultravioleta durante un período de tiempo más o menos largo provoca daños sobre la estructura del ADN.

---

<sup>20</sup> **El material biológico preparado para los estudios de ADN**, Ob, cit..

## **10.- CONCLUSIONES**

Al culminar este trabajo de investigación empírica, se puede establecer como medida de estudio los parámetros actuales de Técnicas Orientativas obteniendo resultados inesperados, ya que, como se puede dar lectura a los estudios expuestos en los Reactivos de Adler y Medeinger, difieren con los datos con la Técnica de Aminofenazona.

El ensayo in situ de las soluciones varía entre los Orientativos, de una manera radical. La Técnica de Adler posee una menor resistencia a la T y Ti, debido a que mayor calor menor son los resultados positivos y de igual manera con el tiempo de exposición de la muestra, no superando las expectativas. Llegado un Ti de vida de 20 minutos a una T de 37° C y de 40 minutos a una T de hasta 20° C, no posesionándose dicha muestra con el transcurso del Ti.

De similares características se manifiesta un cambio brusco con el reactivo Medeinger, conocido también como Verde Malaquita, quien se transforma a un lapso de Ti de 20 minutos hasta una T de 45° C y de 40 minutos hasta una T 37° C, pasado ese T y Ti no se destacan secuelas tangibles.

La Técnica de Aminofenazona, test orientativo, de no uso vigente causó una revelación valiosísima para el estudio químico forense. La muestra hemática se manifestó a un alto rendimiento hasta una Ti de 140 minutos a una T 15° C y con un mínimo de Ti de 20 minutos que se manifestó a una T 60°C. Indicando dichas deducciones como un buen acatamiento del análisis orientativo, de soluciones a expuesta a un tiempo prolongado y a un T de hasta 37°C.

Transcurrido un lapso de tiempo de una semana, tiempo similar y como tope mínimo que posee una muestra ingresada en el Laboratorio Químico Pericial para su procesamiento ya sea en soporte gasa y/o hisopo estéril, las consecuencias reflejan un gran cambio en los finales.

Debido a que el Reactivo de Adler, difiere en gasa a un Ti de 20 minutos hasta una 20° C y de un Ti de 40 minutos hasta una T de 15° C, con las muestras obtenidas mediante hisopo estéril surge que a una Ti de 20 minutos llega hasta una T de 37° C y de 40 minutos hasta una T de 15° C.

Para con el Reactivo de Medeinger, difiere en gasa a un Ti de 20 minutos hasta una T 45° C y de un Ti de 40 minutos hasta una T de 20° C, con las muestras obtenidas mediante hisopo estéril surge que a una Ti de 20 minutos llega hasta una T de 37° C y 40 minutos hasta una T de 15° C.

Y en relación a Aminofenazona, los siguientes resultados insospechados en soporte gasa a un Ti de 20 minutos hasta una T de 45° C, de 40 minutos hasta una T de 37° C, a 60 minutos hasta una T de 20° C, un Ti de 90 y 140 minutos a una T de 15° C y las muestras en hisopo estéril surge que a una T de 20 minutos hasta una T de 45° C, de 40 minutos hasta una T de 45° C, a 60 minutos hasta una T de 45° C, un Ti de 90 y 140 minutos a una T de 15° C. Dichas diversidad se manifiesta con una tendencia favorable a la Técnica de Orientación de Aminofenazona

Los soportes utilizados como la Gasa estéril y el Hisopo, de vástago de madera con punta de algodón estéril, no revelaron diferencias al momento de peritaje, no destacando que la influencia del material sostén interviniera en las resultancias descriptos en el periodo de los distintos ensayos empíricos.

Una vez finalizado los ensayos empíricos de orientación, se realiza el pase a la Especificidad de la muestra, es decir su título, con el uso del Kit HEM-CHECK sobre los modelos peritados en la faz orientativa. Arroja definiciones con una inclinación similar a las resultas dadas en los estudios orientativos.

Las consecuencias de las muestras ostentan las discrepancias, con una tendencia en forma positiva para aquellos ensayos derivados de la Técnica de Aminofenazona. Ya que las resultancias son coincidente con la técnica mencionada.

No reflejándose de igual manera a las técnicas de Adler y Medeinger, debido a que las muestras tratadas con estos dos Reactivos, siendo sus secuelas Negativas, germinan a resultados Positivos cuando fueron expuestas al ensayo del Test Especifico HEM-CHECK, siendo las más escasas pero existente en este experimento empírico dignas de destacar.

Las condiciones de trabajo se rigen bajo el contralor de las normas de bioseguridad implementadas para los Laboratorios Químicos, en relación a muestras de fluidos biológicos, sosteniendo en cada ensayo la higiene, esterilización y el cambió de guantes

periódicamente, con el fin de evitar la contaminación de las muestras motivo de peritaje. Hecho que da manifiesto a una buena lectura del tratamiento que se le ha otorgado a los ejemplares, ello implica que no influyo en esta oportunidad en los ensayos los resultados, resaltados en las Técnicas de Adler y Medeinger. Ya que, los mismos medios fueron empleados en la Técnica de Aminofenazona.

Sigue en base de disputa que el Ti y la T, son variables que degradan las muestras sanguíneas, es decir, a mayor Ti y a mayor T se produce el aumento de la degradación de la muestra. La muestra expuesta a cierta T produce la transformación de la mancha sanguínea, perdiendo sus componentes esenciales los cuales la hacen ser lo que es, sumado a tal circunstancia el Ti transcurrido. Las Técnicas vigentes en la faz orientativa y específica actúan sobre el Grupo Hemo, es decir la Hemoglobina, si no surge en los ejemplares sanguíneos no habrá respuesta favorable para la correlatividad pericial.

Las manchas hemáticas recolectadas en el lugar donde ocurrieron los hechos, poseen un carácter de gran importancia ya que a futuro serán parte de la Hematología Reconstructora, dice ser aquella que nos esquematizara como fueron acaeciendo los hechos sangrientos. El perito interviniente la recolectada, resguarda y remite al Laboratorio para su análisis, quien recibe y posteriormente quien la peritada desconoce los pormenores que conllevan a la misma. Cuando hablo de pormenores, me quiero referir al ámbito de donde fue extraída no solo si es una mancha levantada del suelo, sino otros datos complementarios los cuales forman parte de la investigación que el perito debe conocer para saber y comprender que le sucede a la misma cuando se plantea un resultado Negativo como los expuestos con la Técnicas de Adler y Medeinger.

Para acompañar el accionar y registro del perito en el LDH, se confecciona una acta denominada LEF comprendido por casilleros para diferentes usos, entre algunos de ellos nombrare al primero destinado a la fecha del suceso, el horario de llegada y salida de los peritos, los datos de la causa comprendidos como Caratula, Victima, Imputado, Unidad Fiscal, Dependencia policial de jurisdicción, por quien es solicitado la presencia de los peritos, otro similar para los datos filiatorios del testigo/s, personal interviniente y luego se pasa al casillero de nombre "Lugar del Hecho", con posterioridad los siguientes que forman parte del acta.

Me permito emitir, en vos de lo experimentado en esta Tesis, de más de dos años de estudios arduo y en asiento de las resultancias, que este casillero que a continuación se expone es de relevancia, por que será quien digite el accionar del perito químico en el campo de estudio dentro del Laboratorio. Es de menester señalarlo en pie de excelencia, quien manifestara, informará y otorgará data de LDH, aportando al momento de dar ensayo a la muestra símil hemática recolectada un pantallazo de que se trata el hecho, en qué estado se encontraba el lugar, en un ambiente abierto, cerrado, como es la iluminación, el tipo de preservación, el clima y uno de los datos que está basado mi trabajo la Temperatura ostentada en °C.

LUGAR DEL HECHO	DOMICILIO		CALLE	NRO.			
			LOCALIDAD				
	TIPO DE VIVIENDA	COMERCIO	CASA	DEPARTAMENTO	PRECARIA		
	PRESERVACION			COMPLETA	INCOMPLETA		
	ILUMINACION			BUENA	REGULAR	MALA NULA	
	CLIMA		DESPEJADO	NUBLADO	LLUVIA	GRANIZO	
	VIENTO			SIN VIENTO	MEDIO	FUERTE	
	TEMPERATURA °C		UBICACIÓN G.P.S.				
	OBSERVACIONES						

VIENTO
TEMPERATURA °C
OBSERVACIONES

El Ti de llegada de los peritos a la EDC se verá presente al comienzo del acta, mientras que la T al finalizar la primera carilla del acta, estos registros deberán llevarse a cabo no eludiendo su aporte. Tal vez, al inicio de este tipo de documentación y con la cantidad activa de delitos en la actualidad, pasa inadvertido pero es de necesidad tener conocimiento qué T °C se encuentra el LDH cuando la muestra es recolectada, porque es de suma calidad para quien inicia el proceso de la muestra en estudio. Para el perito interviniente en el LDH, su tarea se define con el levantamiento, resguardo y la entrega, para el perito químico es un mar de desconocimiento que luego se reflejara al momento de dar explicaciones al poder judicial de cuáles son las circunstancias químicas por lo cual esa muestra sanguínea registrada bajo fotograma, la cual posee un color

característico, un dibujo de libro llega al Laboratorio y los resultados de los exámenes no son los esperados.

*“El camino de la verdad es extenso en él encontraremos un mar de sensaciones, de inexperiencias, pero sabrás preguntar a la persona indicada quien extenderá la mano del saber, sin pedir nada a cambio<sup>21</sup>”.*

---

<sup>21</sup> Autora Anabel Simonelli.

**11.- ANEXO**

**11.1 Tabla Nro. 01:** Aspecto colorimétrico de las muestras sanguíneas sometidas a diferentes temperaturas y tiempo de estadía.

TIEMPO	TEMPERATURA	15° C	20° C	37° C	45° C	60° C
0 MINUTO	COLOR DE MANCHA	RI	RI	RI	RI	RI
20 MINUTOS	COLOR DE MANCHA	RI	RI	Rml	Rml	RO
40 MINUTOS	COLOR DE MANCHA	Rml	Rml	RO	RO	RO
60 MINUTOS	COLOR DE MANCHA	Rml	Rml	RO	RO	Roan
90 MINUTOS	COLOR DE MANCHA	RO	RO	RO	ROan	Roan
140 MINUTOS	COLOR DE MANCHA	ROan	ROan	ROan	ROan	Roan

**RI=** Rojo Intenso **Rml=** Rojo menos Intenso **RO=** Rojo Oscuro **ROan=** Rojo Oscuro a negro

**11.2 Tabla Nro. 02:** Sensibilidad de los Test de Adler y Medeinger en la detección de sangre diluida sobre gasa estéril y hisopo estéril.

	DILUCION DE SANGRE	GRUPO A		GRUPO B		GRUPO AB		GRUPO O	
		Gasa	Hisopo	Gasa	Hisopo	Gasa	Hisopo	Gasa	Hisopo
ADLER	1/10	+	+	+	+	+	+	+	+
	1/100	+	+	+	+	+	+	+	+
	1/500	+	+	+	+	+	+	+	+
	1/1000	+	+	+	+	-	-	-	-
	1/5000	+	+	-	-	-	-	-	-
	1/10000	-	-	-	-	-	-	-	-
MEDEINGER	1/10	+	+	+	+	+	+	+	+
	1/100	+	+	+	+	+	+	+	+
	1/500	+	+	+	+	+	+	+	+
	1/1000	+	+	-	-	-	-	-	-
	1/5000	+	-	-	-	-	-	-	-
	1/10000	-	-	-	-	-	-	-	-

**11.3 Tabla Nro. 03:** Sensibilidad de los Test de aminofenazona en la detección de sangre diluida sobre variados soportes.

	DILUCION DE SANGRE	GRUPO A		GRUPO B		GRUPO AB		GRUPO O	
		Gasa	Hisopo	Gasa	Hisopo	Gasa	Hisopo	Gasa	Hisopo
AMINOFENAZONA	1/10	+	+	+	+	+	+	+	+
	1/100	+	+	+	+	+	+	+	+
	1/500	+	+	+	+	+	+	+	+
	1/1000	+	+	+	+	+	+	+	+
	1/5000	+	+	-	-	+	+	+	+
	1/10000	-	-	-	-	-	-	-	-

**11.4 Tabla Nro. 04:** Sensibilidad de los Test Especifico HEM-CHECK en la detección de sangre diluida sobre variados soportes.

	DILUCION DE SANGRE	GRUPO A		GRUPO B		GRUPO AB		GRUPO O	
		Gasa	Hisopo	Gasa	Hisopo	Gasa	Hisopo	Gasa	Hisopo
HEM- CHECK	1/10	+	+	+	+	+	+	+	+
	1/100	+	+	+	+	+	+	+	+
	1/500	+	+	+	+	+	+	+	+
	1/1000	+	+	+	+	+	+	-	-
	1/5000	+	-	-	-	+	+	+	+
	1/10000	-	-	-	-	-	-	-	-

**11.5 Tabla Nro. 05:** Ensayo de Test Orientativo de Adler de las muestras sanguíneas sometidas a diferentes temperaturas y tiempo de estadía.

TIEMPO	TEMPERATURA	15° C	20° C	37° C	45° C	60° C
0 MINUTO	<b>ADLER</b>	Positivo (+)				
20 MINUTOS	<b>ADLER</b>	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)
40 MINUTOS	<b>ADLER</b>	Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)
60 MINUTOS	<b>ADLER</b>	Negativo (-)				
90 MINUTOS	<b>ADLER</b>	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)
140 MINUTOS	<b>ADLER</b>	Negativo (-)				

( + )= Positivo      ( - )= Negativo

**11.6 Tabla Nro. 06:** Ensayo de Test Orientativo de Medeinger (Verde de Malaquita) de las muestras sanguíneas sometidas a diferentes temperaturas y tiempo de estadía.

TIEMPO	TEMPERATURA	15° C	20° C	37° C	45° C	60° C
0 MINUTO	<b>MEDEINGER</b>	Positivo (+)				
20 MINUTOS	<b>MEDEINGER</b>	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)
40 MINUTOS	<b>MEDEINGER</b>	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)
60 MINUTOS	<b>MEDEINGER</b>	Negativo (-)				
90 MINUTOS	<b>MEDEINGER</b>	Negativo (-)				
140 MINUTOS	<b>MEDEINGER</b>	Negativo (-)				

( + )= Positivo      ( - )= Negativo

**11.7 Tabla Nro. 07:** Ensayo de Test Orientativo de Aminofenazona de las muestras sanguíneas sometidas a diferentes temperaturas y tiempo de estadía.

TIEMPO	TEMPERATURA	15° C	20° C	37° C	45° C	60° C
0 MINUTO	<b>AMINOFENAZONA</b>	Positivo (+)				
20 MINUTOS	<b>AMINOFENAZONA</b>	Positivo (+)				
40 MINUTOS	<b>AMINOFENAZONA</b>	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)
60 MINUTOS	<b>AMINOFENAZONA</b>	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)
90 MINUTOS	<b>AMINOFENAZONA</b>	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)
140 MINUTOS	<b>AMINOFENAZONA</b>	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)

(+) = Positivo      (-) = Negativo

**11.8 Tabla Nro. 08:** Ensayo de Test Especifico HEM-CHECK de las muestras sanguíneas sometidas a diferentes temperaturas y tiempo de estadía.

TIEMPO	TEMPERATURA	15° C	20° C	37° C	45° C	60° C
0 MINUTO	HEM- CHECK	Positivo (+)				
20 MINUTOS	HEM- CHECK	Positivo (+)				
40 MINUTOS	HEM- CHECK	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)
60 MINUTOS	HEM- CHECK	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)
90 MINUTOS	HEM- CHECK	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)
140 MINUTOS	HEM- CHECK	Negativo (-)				

( + )= Positivo      ( - )= Negativo

**11.9 Tabla Nro. 09:** Ensayo de Test Orientativo de Adler de las muestras sanguíneas que fueron sometidas a diferentes temperaturas y tiempo de estadía, las cuales se conservaron en el Laboratorio por una semana hasta su apertura, en soporte Gasa estéril.

TIEMPO	TEMPERATURA	15° C	20° C	37° C	45° C	60° C
0 MINUTO	<b>ADLER</b>	Positivo (+)				
20 MINUTOS	<b>ADLER</b>	Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)
40 MINUTOS	<b>ADLER</b>	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)
60 MINUTOS	<b>ADLER</b>	Negativo (-)				
90 MINUTOS	<b>ADLER</b>	Negativo (-)				
140 MINUTOS	<b>ADLER</b>	Negativo (-)				

( + )= Positivo      ( - )= Negativo

**11.10 Tabla Nro. 10:** Ensayo de Test Especifico de HEM-CHECK de las muestras sanguíneas que fueron sometidas a diferentes temperaturas y tiempo de estadía, las cuales se conservaron en el Laboratorio por una semana hasta su apertura, en soporte Gasa estéril.

TIEMPO	TEMPERATURA	15° C	20° C	37° C	45° C	60° C
0 MINUTO	<b>HEM- CHECK</b>	Positivo (+)				
20 MINUTOS	<b>HEM- CHECK</b>	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)
40 MINUTOS	<b>HEM- CHECK</b>	Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)
60 MINUTOS	<b>HEM- CHECK</b>	Negativo (-)				
90 MINUTOS	<b>HEM- CHECK</b>	Negativo (-)				
140 MINUTOS	<b>HEM- CHECK</b>	Negativo (-)				

( + )= Positivo      ( - )= Negativo

**11.11 Tabla Nro. 11:** Ensayo de Test Orientativo de Adler de las muestras sanguíneas que fueron sometidas a diferentes temperaturas y tiempo de estadía, las cuales se conservaron en el Laboratorio por una semana hasta su apertura, en soporte Hisopo estéril.

TIEMPO	TEMPERATURA	15° C	20° C	37° C	45° C	60° C
0 MINUTO	<b>ADLER</b>	Positivo (+)				
20 MINUTOS	<b>ADLER</b>	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)
40 MINUTOS	<b>ADLER</b>	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)
60 MINUTOS	<b>ADLER</b>	Negativo (-)				
90 MINUTOS	<b>ADLER</b>	Negativo (-)				
140 MINUTOS	<b>ADLER</b>	Negativo (-)				

( + )= Positivo      ( - )= Negativo

**11.12 Tabla Nro. 12:** Ensayo de Test Especifico de HEM-CHECK de las muestras sanguíneas que fueron sometidas a diferentes temperaturas y tiempo de estadía, las cuales se conservaron en el Laboratorio por una semana hasta su apertura, en soporte Hisopo estéril.

TIEMPO	TEMPERATURA	15° C	20° C	37° C	45° C	60° C
0 MINUTO	<b>HEM- CHECK</b>	Positivo (+)				
20 MINUTOS	<b>HEM- CHECK</b>	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)
40 MINUTOS	<b>HEM- CHECK</b>	Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)
60 MINUTOS	<b>HEM- CHECK</b>	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)
90 MINUTOS	<b>HEM- CHECK</b>	Negativo (-)				
140 MINUTOS	<b>HEM- CHECK</b>	Negativo (-)				

( + )= Positivo      ( - )= Negativo

**11.13 Tabla Nro. 13:** Ensayo de Test Orientativo de Medeinger (Verde de Malaquita) de las muestras sanguíneas que fueron sometidas a diferentes temperaturas y tiempo de estadía, las cuales se conservaron en el Laboratorio por una semana hasta su apertura, en soporte Gasa estéril.

TIEMPO	TEMPERATURA	15° C	20° C	37° C	45° C	60° C
0 MINUTO	<b>MEDEINGER</b>	Positivo (+)				
20 MINUTOS	<b>MEDEINGER</b>	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)
40 MINUTOS	<b>MEDEINGER</b>	Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)
60 MINUTOS	<b>MEDEINGER</b>	Negativo (-)				
90 MINUTOS	<b>MEDEINGER</b>	Negativo (-)				
140 MINUTOS	<b>MEDEINGER</b>	Negativo (-)				

( + )= Positivo      ( - )= Negativo

**11.14 Tabla Nro. 14:** Ensayo de Test Especifico de HEM-CHECK de las muestras sanguíneas que fueron sometidas a diferentes temperaturas y tiempo de estadía, las cuales se conservaron en el Laboratorio por una semana hasta su apertura, en soporte Gasa estéril.

TIEMPO	TEMPERATURA	15° C	20° C	37° C	45° C	60° C
0 MINUTO	<b>HEM- CHECK</b>	Positivo (+)				
20 MINUTOS	<b>HEM- CHECK</b>	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)
40 MINUTOS	<b>HEM- CHECK</b>	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)
60 MINUTOS	<b>HEM- CHECK</b>	Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)
90 MINUTOS	<b>HEM- CHECK</b>	Negativo (-)				
140 MINUTOS	<b>HEM- CHECK</b>	Negativo (-)				

( + )= Positivo      ( - )= Negativo

**11.15 Tabla Nro. 15:** Ensayo de Test Orientativo de Medeinger (Verde de Malaquita) de las muestras sanguíneas que fueron sometidas a diferentes temperaturas y tiempo de estadía, las cuales se conservaron en el Laboratorio por una semana hasta su apertura, en soporte Hisopo estéril.

TIEMPO	TEMPERATURA	15° C	20° C	37° C	45° C	60° C
0 MINUTO	<b>MEDEINGER</b>	Positivo (+)				
20 MINUTOS	<b>MEDEINGER</b>	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)
40 MINUTOS	<b>MEDEINGER</b>	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)
60 MINUTOS	<b>MEDEINGER</b>	Negativo (-)				
90 MINUTOS	<b>MEDEINGER</b>	Negativo (-)				
140 MINUTOS	<b>MEDEINGER</b>	Negativo (-)				

( + )= Positivo      ( - )= Negativo

**11.16 Tabla Nro. 16:** Ensayo de Test Especifico de HEM-CHECK de las muestras sanguíneas que fueron sometidas a diferentes temperaturas y tiempo de estadía, las cuales se conservaron en el Laboratorio por una semana hasta su apertura, en soporte Hisopo estéril.

TIEMPO	TEMPERATURA	15° C	20° C	37° C	45° C	60° C
0 MINUTO	HEM- CHECK	Positivo (+)				
20 MINUTOS	HEM- CHECK	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)
40 MINUTOS	HEM- CHECK	Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)
60 MINUTOS	HEM- CHECK	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)
90 MINUTOS	HEM- CHECK	Negativo (-)				
140 MINUTOS	HEM- CHECK	Negativo (-)				

( + )= Positivo      ( - )= Negativo

**11.17 Tabla Nro. 17:** Ensayo de Test de Aminofenazona de las muestras sanguíneas que fueron sometidas a diferentes temperaturas y tiempo de estadía, las cuales se conservaron en el Laboratorio por una semana hasta su apertura, en soporte Gasa estéril.

TIEMPO	TEMPERATURA	15° C	20° C	37° C	45° C	60° C
0 MINUTO	<b>AMINOFENAZONA</b>	Positivo (+)				
20 MINUTOS	<b>AMINOFENAZONA</b>	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)
40 MINUTOS	<b>AMINOFENAZONA</b>	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)
60 MINUTOS	<b>AMINOFENAZONA</b>	Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)
90 MINUTOS	<b>AMINOFENAZONA</b>	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)
140 MINUTOS	<b>AMINOFENAZONA</b>	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)

( + )= Positivo      ( - )= Negativo

**11.18 Tabla Nro. 18:** Ensayo de Test Especifico de HEM-CHECK de las muestras sanguíneas que fueron sometidas a diferentes temperaturas y tiempo de estadía, las cuales se conservaron en el Laboratorio por una semana hasta su apertura, en soporte Gasa estéril.

TIEMPO	TEMPERATURA	15° C	20° C	37° C	45° C	60° C
0 MINUTO	<b>HEM- CHECK</b>	Positivo (+)				
20 MINUTOS	<b>HEM- CHECK</b>	Positivo (+)				
40 MINUTOS	<b>HEM- CHECK</b>	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)
60 MINUTOS	<b>HEM- CHECK</b>	Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)
90 MINUTOS	<b>HEM- CHECK</b>	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)
140 MINUTOS	<b>HEM- CHECK</b>	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)

( + )= Positivo      ( - )= Negativo

**11.19 Tabla Nro. 19:** Ensayo de Test de Aminofenazona de las muestras sanguíneas que fueron sometidas a diferentes temperaturas y tiempo de estadía, las cuales se conservaron en el Laboratorio por una semana hasta su apertura, en soporte Hisopo estéril.

TIEMPO	TEMPERATURA	15° C	20° C	37° C	45° C	60° C
0 MINUTO	<b>AMINOFENAZONA</b>	Positivo (+)				
20 MINUTOS	<b>AMINOFENAZONA</b>	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)
40 MINUTOS	<b>AMINOFENAZONA</b>	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)
60 MINUTOS	<b>AMINOFENAZONA</b>	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)
90 MINUTOS	<b>AMINOFENAZONA</b>	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)
140 MINUTOS	<b>AMINOFENAZONA</b>	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)

(+) = Positivo      (-) = Negativo

**11.20 Tabla Nro. 20:** Ensayo de Test Especifico de HEM-CHECK de las muestras sanguíneas que fueron sometidas a diferentes temperaturas y tiempo de estadía, las cuales se conservaron en el Laboratorio por una semana hasta su apertura, en soporte Hisopo estéril.

TIEMPO	TEMPERATURA	15° C	20° C	37° C	45° C	60° C
0 MINUTO	<b>HEM- CHECK</b>	Positivo (+)				
20 MINUTOS	<b>HEM- CHECK</b>	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)
40 MINUTOS	<b>HEM- CHECK</b>	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)
60 MINUTOS	<b>HEM- CHECK</b>	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Positivo (+)	Negativo (-)
90 MINUTOS	<b>HEM- CHECK</b>	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)
140 MINUTOS	<b>HEM- CHECK</b>	Positivo (+)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)	Negativo (-)

( + )= Positivo      ( - )= Negativo

## **11.21 ENTREVISTA CON LA LIC. CIENCIAS BIOLÓGICAS CELIA IUDICA**

### **11.21.1 El ADN o material genético qué conocemos para qué nos sirve**

La constitución biológica de nuestro cuerpo humano está forjada por miles de millones de células, derivadas todas de la única célula que nos dio origen, conformada por la fecundación de una célula sexual de cada uno de nuestros padres, el óvulo y el espermatozoide.

A raíz de esta unión, la célula original tiene información procedente de nuestros dos padres, es capaz de reproducirse para dar origen a todas las células del cuerpo, las cuales también posee en su núcleo toda la información que describe cómo somos y las instrucciones necesarias para crearnos, tanto los planos de la construcción como qué hay que hacer para construirnos y ponernos en funcionamiento.

Toda esa información se encuentra escrita en un tipo especial de molécula. Aún más, esta molécula contiene la información necesaria para que esa información se transmita en las sucesivas generaciones, de padres a hijos, constituyéndose en un hilo conductor de la vida a través de las generaciones.

En 1953, dos científicos Watson y Crick, postularon un modelo teórico para describir las características fisicoquímicas que requería esa molécula encargada almacenar y transmitir la información genética, describiendo, nombrando al ADN que hoy está en las noticias de los diarios.

El ADN tiene una estructura doble helicoidal que podemos asemejar a una escalera caracol, Lo asombroso es que posee 4 tipos distintos de peldaños, y que la codificación de todo lo que somos responde únicamente al orden en que se disponen esos 4 tipos diferentes de peldaños, que se llaman nucleótidos.

Son cuatro letras que ordenadas de mil y una formas diferentes permiten leer distintas palabras, hay secuencias o palabras que no tienen significado (o al menos su significado no ha sido hallado aún), las palabras son lo que denominamos genes y son capaces de ser el molde para que lo servirá para construir cada célula y hacerla funcionar coordinadamente con el resto de las de todo el organismo: las proteínas. Toda la información genética de un individuo, la sumatoria de todos sus genes constituye su

## GENOMA.

Que tengamos el color del pelo negro o rubio está escrito en nuestro ADN y tenemos posibilidades de transmitirlo a nuestros hijos, en todo o en parte. Cuando digo en parte, me refiero a que el otro progenitor está también aportando la suya.

Del mismo modo que el pelo o la piel, si existe en nuestro material genético la información sobre una determinada enfermedad genética, expresada o no en nuestro organismo, podemos transmitirla a nuestros hijos.

El conocimiento del Genoma humano permite también conocer tanto las características que se expresan como rasgos normales o enfermedades, cuanto otro tipo de características genéticas que no se expresan. Más bien diríamos que corresponden a una diversidad o variación dentro de la normalidad que presenta el ser humano y que son denominados polimorfismos.

De ellos nos valemos por ejemplo para realizar los estudios de filiación e identidad. Se estudian regiones particulares del Genoma, que presentan mucha variación entre individuos no emparentados, es decir que si observamos esas regiones en un grupo de personas como nosotros, es muy difícil que dos personas posean información similar.

Hay un rango muy amplio de variación o polimorfismo en la población humana, sin que ello represente ningún tipo de alteración o patología. Sin embargo, se heredan normalmente entre padres e hijos, de modo que si un hijo comparte un determinado carácter con un presunto padre, puedo asegurar con altísima probabilidad que lo comparten porque existe un vínculo biológico entre ellos, porque hay muy pocas posibilidades de encontrar en una población otro hombre genéticamente igual al presunto padre, a causa de la gran variabilidad que presenta el carácter que estamos estudiando.

### **11.21.2 Fundamento del análisis del ADN**

La utilización de las técnicas moleculares de análisis del ADN tiene su fundamento en el descubrimiento de la existencia de secuencias hipervariables en regiones particulares del ADN, cuya observación permite generar **perfiles genéticos** que son específicos para cada individuo. Estas regiones de interés suelen denominarse determinantes o marcadores genéticos.

Desde la perspectiva médico-legal un **perfil genético** se podría definir como el conjunto de características hereditarias para un amplio número de marcadores genéticos que posee un individuo, detectables en cualquier muestra biológica que de él proceda.

La herencia de las características presentes en estos perfiles individuo-específicos sigue patrones mendelianos, por lo que es posible tanto identificar a un individuo como establecer vínculos biológicos de parentesco con otros potencialmente relacionados.

La coincidencia entre el perfil genético hallado en las evidencias y el de un individuo sospechoso podrá aportar a la prueba incriminatoria del mismo.

Además, es posible analizar comparativamente el perfil de un individuo con su supuesto progenitor, pudiendo certificar el vínculo biológico existente con una certeza superior al 99.999% o excluyéndolo con el 100% de seguridad.

Para el logro de estos objetivos el trabajo se desarrolla en dos fases fundamentales:

- el análisis de las muestras en el laboratorio
- el análisis matemático-estadístico que permite la validación bioestadística de los resultados obtenidos en la etapa anterior.

Para el análisis de las muestras se utilizan distintos sistemas estandarizados que permiten la identificación de los marcadores genéticos. Estos distintos sistemas disponibles permiten caracterizar regiones denominadas mini satélites (VNTRs) o micro satélites (STRs), regiones presentes en el cromosoma masculino (cromosoma Y) y secuenciar el ADN mitocondrial.

Dependiendo del material biológico sobre el que se efectúa la pericia se realiza una selección que se adecue a los requerimientos de cada caso particular.

Los marcadores denominados mini satélites poseen una potencia discriminativa muy importante, y con 4 a 6 determinantes, se logran niveles de certeza muy altos.

El inconveniente que presentan es que para estudiarlos se necesita una buena cantidad de ADN en buen estado. La técnica utilizada para estudiarlos es la denominada de Southern-blot. Se necesita cortar el ADN en fragmentos de distintos tamaños, los que se separan eléctricamente.

Los fragmentos de interés son identificados mediante una sonda molecular específica, que luego es detectada por quimioluminiscencia en una placa radiográfica.

Posteriormente se desarrollaron los sistemas STR, que poseen una potencia discriminativa menor, por lo que es necesario estudiar un número mayor de determinantes, superior a 10. La ventaja técnica que ofrecen es que se pueden utilizar cuando la cantidad de ADN es ínfima o cuando éste se encuentra deteriorado.

La técnica utilizada requiere de una amplificación por la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) en donde las regiones de interés primero son amplificadas, es decir se copian sucesivas veces para tener un número de moléculas varias veces millonaria. Estos segmentos se separan eléctricamente y los fragmentos amplificados se detectan mediante una tinción con plata.

Recientemente se han desarrollado sistemas automatizados en donde un equipo sofisticado verifica los fragmentos separándolos en forma colorimétrica. Mediante estos sistemas es posible detectar 16 determinantes genéticos a la vez.

Existe también la posibilidad de rastrear los determinantes por la vía paterna, a través de la caracterización de segmentos que están presentes en el cromosoma Y, que es exclusivamente masculino. -

Otra forma de caracterización de interés cuando el material genético de partida se halla muy deteriorado, por es estudiar el ADN mitocondrial. Las mitocondrias son una sub partícula celular que contiene un ADN especial, pequeño y circular. Hay muchas mitocondrias en una célula y de algún modo podría decirse que se encuentra protegido dentro de las mitocondrias, por lo que hay mayores posibilidades de encontrar ADN mitocondrial que ADN nuclear en buen estado.

Las mitocondrias presentes en un individuo se heredan únicamente por la vía materna, es decir vienen todas incluidas en el óvulo, de modo que la caracterización del ADN mitocondrial permite estudiar la herencia únicamente por la vía materna, sin poder estudiar la paternidad en base al estudio de este ADN.

La segunda etapa del trabajo comprende comparar los resultados obtenidos en los individuos estudiados con la población a la que pertenecen, permitiendo evaluar la probabilidad de que las coincidencias encontradas se deban al azar.

Para ello es necesario establecer la frecuencia con la que las características genéticas que se evidenciaron en el ADN de los individuos se repite en la población general. Cuando una población es caracterizada para los determinantes genéticos utilizados, se construye una base de datos donde se registra la frecuencia con que cada uno de los determinantes se presenta en esa población.

Existen diferencias en la distribución de los distintos determinantes según la raza o la etnia de la población estudiada. Es de utilidad evaluar la población a la que se pertenece para saber si difiere de la población general de la raza a la que pertenece, para optimizar el cálculo utilizando la referencia correcta. La utilización de estas frecuencias poblacionales en los cálculos matemático-estadísticos da por resultado el grado de certeza con que se informa el resultado obtenido.

### **11.21.3 El material biológico preparado para los estudios de ADN**

A partir de la última década, los avances tecno-científicos han permitido realizar estudios de individualización de altísima precisión. Sin embargo, de nada hubieran servido estos adelantos, si no se hubieran establecido las normativas básicas para la correcta toma y conservación de las muestras biológicas obtenidas a fin de asegurar que lleguen al laboratorio para ser procesadas en condiciones óptimas para su estudio.

Es decir, que se puede obtener ADN de muestras biológicas en forma controlada, como puede ser en un laboratorio a partir de una muestra de sangre tomada por punción de una vena, en condiciones estériles y llevada a cabo por un profesional matriculado, o puede uno tener que obtener ADN de un manojito de células (sangre, pelos, semen, saliva, orina, heces) casi imperceptible que se ha encontrado en la escena de un crimen.

Quizás también no pueda determinarse si esa mancha o descamación pertenece a una o a varias personas, o a la víctima o al acusado, o a las víctimas o a los acusados.....

En otras palabras no siempre la muestra resulta clara, accesible e indubitada. Por eso, la recolección de muestras suele resultar un paso clave para el éxito de las pericias de ADN. -

A continuación, un listado de evidencias donde es factible obtener restos de células sobre las cuales realizar estudios:

- Pelos con bulbo
- Pelos sin bulbo
- Uñas
- Muestras de orina
- Residuos de saliva en máscaras de media

- Caspa (células de descamación)
- Pulpa dental. Dentina
- Jeringas hipodérmicas
- Manchas de sangre, semen, saliva u orina

Los objetos comunes que pueden ser depósito de células para estudio pueden ser:

- Peines, cepillos, cepillos de ropa, de dientes, de uñas.
- Tazas, vasos
- Cubiertos
- Boquillas de cigarrillos, colillas de cigarrillos
- Sobres, estampillas
- Cosméticos
- Máquinas de afeitar
- Prótesis dentarias, dentaduras postizas
- Ropas, bufandas, sacos
- Interior de medias o de calzado
- Anillos, relojes
- Muestras de anatomía patológica, extendidos en portaobjetos.

Cuando se obtiene una muestra biológica de donde se pretende estudiar el ADN, es necesario establecer cuáles son las condiciones óptimas para su recuperación, preservación y envío.

Efectivamente, cuando nos hallamos frente a una muestra biológica que debe resguardarse para su estudio, debemos considerar

- ✓ que la misma deba ser tomada teniendo en cuenta lineamientos básicos a cargo de personal competente.
- ✓ que los medios y materiales para poder tomar y conservar las muestras hasta su envío al laboratorio estén disponibles.
- ✓ que se encuentren coordinados la toma de muestras y su envío.
- ✓ que se cumpla la correcta y estricta cadena de custodia a que se deben someter las muestras.

La remisión de las muestras al laboratorio implica que los profesionales que intervienen en la misma deben responsabilizarse con su firma de la cadena de custodia e identificación del material.

Una vez remitido al laboratorio, es apropiado que de todas las muestras obtenidas se resguarde material para que, de ser necesario, sea realizada una pericia de referencia o contra pericia en otro laboratorio para certificar los resultados obtenidos.

#### **Elementos teóricos necesarios para comprender qué es importante y qué no lo es**

Una muestra biológica a partir de la cual va a estudiarse el material genético debe preservarse de 2 tipos distintos de agentes: la contaminación biológica y la degradación.

##### **11.21.4 Contaminación biológica**

La contaminación biológica puede definirse como un aporte “extra” de material genético al propio de la evidencia. Es decir, que por un inadecuado tratamiento, se ha producido una mezcla de material genético que puede crear confusión en el análisis de las muestras y la posterior interpretación de los resultados.

Dado que las modernas tecnologías utilizan la amplificación por PCR de mínimas cantidades de material genético, tan poco como de una sola célula, es factible que cualquier material biológico, por pequeño que sea, pueda ser reconocido por el sistema de amplificación.

Es decir que la alta sensibilidad del sistema de PCR puede resultar igualmente sensible para amplificar el material genético de la evidencia, y para amplificar cualquier célula dejada involuntariamente sobre esa evidencia. Y esto puede suceder tanto durante la recuperación de la muestra, su envío al laboratorio o en el propio laboratorio.

Debemos hacer una salvedad a este respecto. Es posible que la muestra de origen ya presente una mezcla de material genético, por ejemplo, en colillas de cigarrillos que han sido fumados por más de una persona, en casos de agresiones múltiples donde más de una persona resulta herida y aparecen muchas manchas de sangre, en el material obtenido por hisopado vaginal de una mujer agredida sexualmente por uno o varios individuos, etc.).

Lamentablemente no es posible evitar esta contaminación y a menudo es de gran interés para la investigación.

Contrariamente, la contaminación biológica evitable, es aquella que se produce por descuido, negligencia o desconocimiento, puede confundir los resultados obtenidos y puede conducir a resultados incorrectos.

#### **11.21.5 Degradación del material**

Otro problema es la degradación de la muestra biológica. Se habla de ADN degradado cuando el material genético ha sido fragmentado en forma inespecífica, en general debido a la acción de microorganismos.

Nuevamente debemos hacer una salvedad en cuanto esta degradación es evitable o no. Cuando se recupera una muestra que ha estado expuesta durante un determinado período de tiempo a la acción de agentes meteorológicos, humedad ambiente, acción de insectos, etc., tendrá un cierto grado de deterioro "natural", inevitable.

En otras ocasiones, cuando la muestra se recupera o aún más frecuentemente, se envía en condiciones inadecuadas, frecuentemente se incrementa la degradación del material, por proliferación bacteriana. En otros casos, cuando el envío se realiza sin refrigerar o cuando pasan períodos de tiempo demasiado largos entre la toma y la llegada al laboratorio, también se favorece la degradación de la evidencia.

#### **11.21.6 Toma de muestras destinadas a estudios de ADN**

##### **A) Recuperación y limpieza del material**

Como ya se indicó, lo esencial en la recuperación del material es minimizar la contaminación de las muestras con DNA extraño. Se debe poner especial cuidado con cada elemento que se encuentre en el lugar del hecho, y las personas que llegan primero al mismo, gotas de sudor, sangre, saliva, células epiteliales o cabellos de todos los que analizan el sitio o llegaron a él, deben tener total cuidado, porque pueden ser agentes contaminantes e invalidar las pruebas o los resultados devueltos por los laboratorios.

Por ejemplo, es común que aparezcan en la zona donde se produce un crimen, se descubren restos óseos o se produce un accidente gran cantidad de curiosos que fuman, mascan chicle o incluso tocan los indicios. Esto se traduce en un riesgo importante de contaminación sobre los indicios biológicos y el aporte de nuevas muestras, las colillas, los chicles, que dejan involuntariamente los curiosos. -

Por elemental que parezca, no debemos olvidar nunca que los laboratorios sólo estudian aquello que se remite, y que el análisis se inicia sobre el indicio en las condiciones en las que llega, no en las que se manda; de ahí la enorme importancia del indicio en el lugar de los hechos.

Durante la **recolección, conservación y envío**, debe evitarse la contaminación, ya que cualquier material orgánico procedente de los manipuladores o ruptura de la cadena de frío puede imposibilitar el estudio.

### **B) Normas generales**

En este sentido deben seguirse las siguientes normas generales:

1. Procurar condiciones de máxima **esterilidad**, usando guantes de goma -si se entra en la escena del crimen- e instrumentos esterilizados o adecuadamente limpiados para la obtención de materiales (pinzas, tijeras etc.).

2. Volver a limpiar o utilizar un **nuevo instrumento** para recoger un indicio diferente. Si se recoge con guantes, cambiar los mismos si se recoge un elemento diferente.

3. Usar **diferentes recipientes** para cada indicio, aunque hayan sido recogidos en lugares muy próximos o estuviesen juntos.

4. Los recipientes deben ser de materiales que permitan la transpiración de las muestras y eviten la condensación de humedad en el interior: el material de elección suelen ser sobres de papel que no permite el paso de la luz.

5. **Etiquetar perfectamente** cada uno de los recipientes haciendo referencia a:

- fecha y hora;
- identificación de la víctima;
- localización del indicio;
- tipo de indicio;
- número del mismo;
- nombre de la persona que lo recoge;
- referencia al caso judicial.

**6. Enviar** lo más **rápidamente** posible al Juzgado o laboratorio, asegurando que si hay muestras con cadena de frío, esta se mantenga.

**7.** Es fundamental y básico tomar **muestras testigo** de la víctima y sospechoso. De ser posible extrayéndole sangre, o en su defecto con frotis de la cavidad bucal (siempre con autorización de la persona implicada).

**8.** Tomar la **filiación de todas las personas** que han intervenido o colaborado en la recogida de las evidencias por si se produce algún problema de contaminación cruzada.

### **C) Normas generales en casos especiales**

Estas normas generales se completarán con aquellas que son específicas a determinados vestigios orgánicos y a su forma de presentación.

❖ **Indicios líquidos:** Se deben recoger con una jeringa estéril; la sangre debe mantenerse anti coagulada con EDTA. También se pueden utilizar algodón, gasa, o hisopos estériles, para la recolección, dejándolos secar antes de almacenar.

Los fluidos biológicos como sangre, semen, saliva u orina se remiten al laboratorio enviando el sustrato en donde se encuentran o recogidos con hisopos de algodón secos o humedecidos en agua o solución salina. Es de vital importancia el secado de las muestras para evitar la proliferación de hongos.

❖ **Indicios húmedos:** Se debe dejarlos secar a temperatura ambiente, sin aplicar ninguna fuente de calor. No deben guardarse en estado húmedo, ya que la humedad

favorece el crecimiento de bacterias y hongos que puede afectar a la calidad del indicio (las enzimas de restricción de los microorganismos pueden degradar el DNA).

❖ **Manchas secas** (sangre, semen, saliva): Las podemos encontrar sobre objetos transportables (cuchillo, bolígrafo, armas, elementos de limpieza, etc.) o sobre objetos no transportables (muebles, paredes, sanitarios, etc.). Dentro de los primeros debemos incluir aquellos que se pueden cortar (cortinas, alfombras, etc.). En el caso de que se puedan transportar enviaremos el objeto o el trozo cortado del mismo, excepto si se trata de alguna prenda de vestir que la remitiremos sin cortar. Cuando el objeto no es transportable (suelo, muebles) procederemos a raspar la mancha con un instrumento estéril o lo mas limpio, depositando el raspado en un papel de similares caracteres, que se doblará e introducirá en un recipiente hermético limpio para mantener el indicio. En el caso de que se localicen pequeñas gotas, como consecuencia de salpicaduras, se debe raspar o tratar de recuperarlas aplicando sobre ellas una cinta adhesiva.

❖ **Restos sólidos**: Con la misma precaución, procederemos a su recolección y almacenamiento. Cuando sean antiguos podremos tomarlos directamente usando guantes, pero si son recientes, frágiles o maleables debemos usar pinzas.

❖ **Pelos**: Siempre se mantendrá el cuidado que las normas generales aconsejan, debiendo ser recogidos con pinzas. Debe evitarse un fallo muy frecuente al manejar pelos, ya que hay que almacenar cada pelo en un recipiente diferente, pese a que aparezcan todos juntos e incluso parezcan, macroscópicamente, proceder de una misma persona. Es posible recuperar más ADN de pelos arrancados que pelos caídos.

❖ **Huesos**: Deben ser manipulados con guantes de cirugía para evitar la contaminación con células epiteliales o sudor, como se dijo previamente. En lo posible trabajar con los huesos recientemente desenterrados, sin lavar. El lavado, el secado y posterior almacenamiento estando húmedo puede enmohecerlo y acelerar el proceso de degradación. El exceso de tierra o ceniza se elimina con escalpelo y el hueso se limpia en un chorro abrasivo de arena fresca de óxido de aluminio. Posteriormente, se elimina el polvo del hueso y el óxido de aluminio del hueso limpio utilizando una brocha suave.

Un tema aparte los representan los huesos en casos antiguos o identificación de restos con varios años o meses en cualquier medio, agua, tierra o sales de determinados terrenos. También se hace hincapié en dos casos que nos tocan muy de cerca: por un lado restos de fosas comunes, en nuestro país luego del último proceso de

reorganización nacional. Y un caso especial como fue el accidente del avión de Lapa en el aeropuerto Jorge Newbery de Capital Federal.

Una vez recogido el indicio debe conservarse en frío (+4°C) o congelarlo a la mínima temperatura posible. Se debe tener en cuenta que al conservar de esta manera, muy posiblemente se invalide las muestras para otros análisis diferentes a la identificación de DNA.

#### **A) Muestras procedentes de agresiones sexuales**

Cuando se denuncia una agresión sexual, lo recomendable es realizar una toma vaginal, anal o bucal mediante hisopos estériles y secos, que dejarán secar sin la adición de ningún líquido conservante. También puede ser aconsejable la realización de un lavado con aproximadamente 10 ml de solución fisiológica estéril.

En todos los casos se identificarán perfectamente las muestras y se remitirán al laboratorio por el medio más rápido. Este punto es muy importante, debido al alto contenido en microorganismos que se encuentran en las cavidades de donde proceden las muestras.

Las prendas íntimas deben ser remitidas perfectamente secas, en envoltorios individuales.

**Saliva:** En los últimos años el número de muestras de saliva que se analizan se ha incrementado notablemente. Esto se debe a que la toma de saliva con un hisopo resulta un método no invasivo, ni doloroso ni traumático, de fácil utilización en recién nacidos. El rendimiento en ADN es muy alto.

#### **B) Otros indicios:**

Otros tipos de muestras biológicas menos habituales son la orina, las heces, secreciones nasales, uñas, etc.

La identificación de muestras de orina suele estar relacionada con el control de consumo de drogas. El rendimiento en ADN obtenido a partir de la orina depende de la

demora entre la recolección y el análisis. La orina de mujer contiene más células que la del hombre, debido a que se enriquece con células descamadas del epitelio vaginal.

En la individualización de muestras de heces, se utiliza el estudio del ADN mitocondrial.

A partir de uñas es posible obtener información de un fragmento. En ocasiones, el interés de las muestras de uñas se centra en los restos que pudieran quedar bajo las de una víctima si se produjeron arañazos o heridas durante un ataque violento. En este caso, la recuperación de material dependerá de lo profundo del arañazo, aunque no es posible hacer generalización alguna.

**Tejidos fijados:** A veces es necesario recurrir como fuente de ADN a estudios anatómicos patológicos. El factor limitante para una recuperación exitosa de ADN es la presencia de formol en el tratamiento de la muestra de tejido. El formol impide la amplificación y lleva al fracaso la tipificación del ADN.

## **11.27 MANUAL DE INSTRUCCIONES**

**NOMBRE DEL PRODUCTO:** HEM- CHECK-1

**Uso al que está destinado:** Ensayo inmunocromatográfico, para la detección de sangre en materia fecal, en el cáncer colorrectal. Uso “in vitro”.

**Número de unidades de análisis:** 20 unidades.

### **11.27.1 Fundamento del método**

El HEM-CHECK-1 es un ensayo inmunocromatográfico, rápido, cualitativo, para la detección de sangre en materia fecal, en el cáncer colorrectal. El método emplea una única combinación de anticuerpo monoclonal conjugado marcado y anticuerpo policlonal en fase sólida para identificar selectivamente hemoglobina humana con un alto grado de sensibilidad y especificidad.

Luego del muestreo sobre una tarjeta especial de recolección, la muestra es colocada en una solución de extracción y unas pocas gotas de este extracto son agregadas en la ventana de muestra del dispositivo de reacción. A medida que la muestra en ensayo corre a través del dispositivo absorbente, el conjugado anticuerpo – colorante se une al antígeno hemoglobina formando un complejo antígeno – anticuerpo. Este complejo se une al anticuerpo de hemoglobina en la zona de reacción del test produciendo una banda de color rosado. En ausencia de hemoglobina, no se observará línea alguna en la zona de test. La mezcla de reacción continúa corriendo a través del dispositivo absorbente. El conjugado libre se une a los reactivos en la zona de control produciendo una banda de color rosado, demostrando así los reactivos funcionan correctamente.

### **11.27.2 Resumen y explicación del ensayo**

- 1) Retirar el dispositivo de test de su envase protector.
- 2) Abrir un tubo de plástico conteniendo la solución de extracción, para cada muestra a analizar. Conservar el tapón.
- 3) Abrir las aletas frontal y trasera de la tarjeta de recolección de muestra.

- 4) Arrancar la tira de papel de la tarjeta de recolección y colocarla en el tubo plástico.
- 5) Cerrar el tubo plástico con el tapón y agitar vigorosamente durante 10 segundos.
- 6) Abrir el tubo plástico.
- 7) Utilizando el gotero, agregar 6 gotas (200ul) de solución del extracto dentro de la ventana de muestra en el dispositivo de reacción.
- 8) Leer los resultados del test 10 minutos después del agregado de la muestra al dispositivo de reacción.

#### **11.27.3 Instrucciones para su conservación**

La estabilidad del producto ya elaborado y apto para su comercialización es de 27 meses a partir de su fecha de producción, habiendo sido almacenado a temperatura entre 4 grados C y 30 grados C. Debe ser conservado en envase cerrado. No congelar el Kit de ensayo.

#### **11.27.4 Forma de presentación**

Cada Kit contiene todo lo necesario para realizar 20 ensayos.

- 20 dispositivos HEM-CHECK-1.
- 20 tarjetas de recolección de muestras.
- 20 goteros plásticos.
- 20 tubos de plástico con 2 ml de Solución de extracción (buffer salino fosfato 0,1 M).
- 20 aplicadores.
- 1 Manual de instrucciones.

Composición. Descripción cuali-cuantitativa de los componentes. Indicaciones acerca de la preparación de los componentes del estuche en caso de no presentarse listos para su uso:

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

#### **11.27.5 Muestra a emplear. Condiciones de obtención de las mismas**

Nota preliminar: Los expertos científicos recomiendan, generalmente, recolectar muestras fecales de tres deposiciones, para aumentar la probabilidad de detectar el sangrado intermitente de los pólipos o la distribución no homogénea de la sangre en las heces.

Procedimiento: Escribir nombre, edad y domicilio del paciente y fecha de la recolección

## **11.28 INSTRUCTIVO PARA LA CORRECTA TOMA DE MUESTRAS Y PRESERVACION DE INDICIOS PARA SU ANALISIS QUIMICO**

### **11.28.1 Manchas Biológicas Sangre**

**Objetivo:** Proveer los conocimientos y herramientas necesarias para la correcta toma de muestra, conservación y posterior remisión al Laboratorio de los rastros y muestras de sangre, ya sea en estado fresco (líquida) y/o como mancha seca.

**Alcance:** Todas las muestras tomadas para ser analizadas con fines periciales en el Gabinete de Manchas Biológicas del Laboratorio Químico. Cabe aclarar que en este Laboratorio se determina la presencia de sangre, sangre humana y grupo sanguíneo.

### **11.28.2 Recipientes para la toma de muestra**

**En estado fresco:** sangre recolectada en recipiente limpio, con el agregado previo de anticoagulante (el anticoagulante de elección es el fluoruro de sodio, pero se pueden usar otros como EDTA, heparina, etc.) El recipiente debe poseer buen cierre para evitar posibles derrames. Una vez obtenida la muestra, mantenerla refrigerada, NO cortar la cadena de frío.

**En estado seco:** Si son prendas o telas, remitirlas prensadas entre dos cartones, o papel absorbente, de no contarlos usar papel de diario; cada prenda debe colocarse en forma extendida en forma individual. Nunca doblada por que pueden aparecer manchadas partes que originalmente no lo estaban. Nunca enviar las prendas mojadas, húmedas, sin extender y/o en conjunto. Tampoco colocarlas en bolsas de nylon, ya que condensan la humedad favoreciendo la putrefacción.

En caso de encontrarse en un soporte fácil de manipular enviarlo en estado seco, **envuelto en papel o cartón nunca nylon.**

Si el soporte no es removible o es de tamaño grande, la mancha se levanta en gasa y/o papel del tipo absorbente, dejar secar y luego depositar en sobres efectuados con papel o en caja de cartón, **no colocarlas en bolsas de nylon ni en recipientes de plástico.**

### **11.28.3 Metodología de levantamiento**

En el lugar del hecho si es **sangre seca**, se humedece con solución fisiológica un trozo de gasa y/o hisopo de algodón, se deposita sobre la mancha, se hace presión sobre ella. Dejar secar, colocar entre papel secante y ensobrarlo.

Si en el lugar del hecho se encuentra **sangre líquida** colocamos sobre la misma un trozo de gasa y/o un hisopo de algodón estériles, y una vez embebidos se procede de igual manera que lo mencionado anteriormente.

#### **11.28.4 Envasado y documentación**

Todos los elementos remitidos al Laboratorio deben encontrarse cerrados cumpliendo los garantías de ley, siempre con rótulo indicando el lugar exacto de la toma de la muestra. Adjuntar siempre el acta de levantamiento, junto con la nota de solicitud de pericia, detallando claramente los análisis periciales solicitados. SIEMPRE DEBE ACLARARSE TIPO DE ANTICUAGULANTE USADO.

#### **11.28.5 Contaminación de las muestras**

Para evitar la contaminación del material sometido a pericias, debe tenerse en cuenta lo siguiente:

- Siempre se utilizaran recipientes limpios y secos
- Deben limpiarse los elementos utilizados para el levantamiento de muestras (tijeras, pinzas, pipetas, etc.).

Los elementos distintos, deben envasarse en recipientes distintos.

#### **11.28.6 Normas generales de recolección de muestras para futuro cotejo de estudios de alta complejidad ADN**

- Adecuada preservación y protección del lugar del hecho, impidiendo el acceso de personas no autorizadas ni calificadas en la toma de muestra, para evitar que indicios de curiosos (colillas, chicles, etc) se sumen a las evidencias reales de la escena del crimen.
- Procurar condiciones de máxima esterilidad, utilizando guantes, mascarillas, gorros, vestimenta adecuada, para impedir contaminar muestra con saliva, sudor, o pelos de las personas que recogen las evidencias.

- Usar en todo momento material estéril para el levantamiento de las muestras, por lo que se recomienda material DESCARTABLE. Cuando no es posible desechar el instrumental (pinzas metálicas, o tijeras), este debe ser limpiado minuciosamente entre muestra y muestra.
- Cambiar guantes e instrumentos cada vez que se recoja un elemento diferente.
- Todo material húmedo, debe ser previamente secado, a temperatura ambiente, sin aplicar ninguna fuente de calor. La humedad favorece el crecimiento de bacterias y hongos que puede afectar la calidad del indicio.
- Las muestras deben ser guardadas en forma individual, en envoltorios que permitan su transpiración, que eviten la condensación de humedad en el interior absolutamente estéril y sin previa utilización con ningún otro fin. El material de elección suele ser sobres de papel que a su vez no permite el paso de la luz. **NO UTILIZAR ENVOLTORIOS DE NYLON.**
- Usar diferentes recipientes para cada indicio, aunque hayan sido recogidos en lugares muy próximos o estuviesen juntos.
- Sobre las muestras no se debe añadir ningún tipo de conservante que pudiera perjudicar los procesos de extracción y/o amplificación del material genético.
- Etiquetar perfectamente cada una de las muestras indicando:
  - tipo de muestra.
  - lugar de recolección.
  - numero de referencia de la muestra.
  - fecha de levantamiento.
  - perito interviniente.
  - Datos de la I.P.P.: Número, carátula, víctima, imputado, UFI interviniente.
  - Enviar rápidamente al laboratorio asegurando que si hay muestras en cadena de frío esta se mantenga durante todo el traslado.
  - Toda muestra debe ser acompañada por material indubitado de la víctima y/o sospechoso. (muestra sanguínea recogida en tarjetas especiales para análisis de ADN).

## **12.- NOMENCLADOR**

**ADN**: El ácido desoxirribonucleico, frecuentemente abreviado como ADN (y también DNA, del inglés deoxyribonucleic acid),

**ARN**: El ácido ribonucleico (ARN o RNA, de RiboNucleic Acid, su nombre en inglés).

**Asepsia**: Es la condición libre de microorganismos que producen enfermedades o infecciones.

**°C**: Grado Centígrado.

**CO**: Oxido de Carbono.

**CO<sub>2</sub>**: Dióxido de Carbono.

**ClNa**: Cloruro de Sodio.

**Detergente no iónico**: Usado para realizar la limpieza de materiales de Laboratorio.

**EDC**: Escena del Crimen.

**Fe**: Hierro.

**Formaldehido**: Aldehído fórmico. Compuesto orgánico volátil, incoloro, irritante y de olor penetrante, utilizado en las industrias química, utilizada como conservante por anatomistas, embalsamadores, y patólogos.

**H<sub>2</sub>O**: Agua.

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**: Peróxido de Hidrogeno o Agua Oxigenada.

**Hb – Hgb**: Hemoglobina.

**HbO<sub>2</sub>**: Oxihemoglobina.

**HbCO**: Carboxihemoglobina.

**H+**: Iones de Hidrogeno +

**g/dl**: Gramos por Decilitro.

**Gasa Estéril**: Son mallas de algodón hidrófilo de diferentes tamaños, se esterilizan para extremar la asepsia.

**Genes**: Secuencia lineal organizada de nucleótidos en la molécula de ADN, que contiene la información necesaria para la síntesis de una macromolécula con función celular específica.

**Hematina**: Material colorante de la Sangre.

**Hemina**: es el nombre farmacológico para el grupo hemo

**Impericia**: Falta de habilidad para desarrollar una tarea.

**LDH**: Lugar del Hecho.

**LEF**: Levantamiento de Evidencias Físicas.

**ml**: Mililitros.

**Nucleasas**: Enzimas de restricción que cortan ADN de doble cadena cuando reconocen un patrón de secuencia específico.

**O<sub>2</sub>**: Oxígeno.

**PCR**: Reacción en Cadena de la Polimerasa.

**pH**: Peso del hidrogeno o efectividad del hidrogeno.

**p/v**: Peso sobre volumen.

**Ppm**: Parte por millón en química.

**PO<sub>2</sub>**: Presión de Oxígeno.

**Reacción en Cadena de la Polimerasa**: Es una técnica biomédica que permite obtener grandes cantidades de secuencias moleculares de ADN o ARN replicados, a partir de muestras en muy pequeñas cantidades de estos ADN o ARN.

**Rf**: Referencia.

**T**: Temperatura.

**Ti**: Tiempo.

**Tosquedad**: Ignorancia.

**UI**: Unidad internacional de medida de sustancia por ejemplo 1 ul es igual o representa ug.

**Ug**: Microgramos.

### **13.- BIBLIOGRAFIA**

- **El material biológico preparado para los estudios de ADN**, Curso La tecnología del ADN aplicada a la Justicia, Iudica, Celia. 2001.
- **El ADN o material genético: qué conocemos y para qué nos sirve**. Curso La tecnología del ADN aplicada a la Justicia, Iudica, Celia. 2001.
- **Generalidades acerca de la técnica de análisis del ADN y su aporte a la Justicia**. Curso La tecnología del ADN aplicada a la Justicia. Iudica, Celia. 2001.
- **La Prueba del ADN en Medicina Forense**, M. Begoña Martínez Jarreta Profesora Titular de Medicina Legal y Forense, Directora del Laboratorio de Genética Forense, Facultad de Medicina, Universidad de Zaragoza, Edición Masson S.A., Barcelona- España, 1999, 342 p.
- **Lecciones de Medicina Legal**, Bonnet Emilio Federico Pablo, Buenos Aires, López Libreros Editores, 1984, Cuarta Edición.
- **Manual de Criminalística**, Albarracín Roberto, Buenos Aires, Policía Federal, Argentina Editorial Policial, 1971, Segunda Edición.
- **Manual de Procedimientos de Laboratorio en Técnicas Básicas de Hematología**, Instituto Nacional de la Salud, Lima, Perú, Marzo 2005, 87 p.
- **Manual de Química Forense**, Coordinadora Patricia M. Caro, Colaboradores Sonia Aversa- Raúl Cerolini- Gabriel Doro, Ediciones La Rocca, República Argentina, Febrero de 2007, 271p.
- **Medicina Legal y Toxicología**, Autor Gisbert Calabuig – E. Villanueva Cañadas, 6° Edición, 1377 p.
- **Compendio Instructivo Laboratorio Químico Pericial**, La Plata, Junio 2006, 37 p.

- **Química Forense**, Luis Camilo Osorio Isaza Fiscal General de la Nación, Luis Alberto Santana Robayo Vice fiscal General de la Nación, Colombia, Marzo 2005, 50 p.
- **Reglamento para el desarrollo de Trabajos Finales**, Departamento de Metodología de la Investigación de la Universidad Fasta, Mar del Plata, 2005.
- **Revista de Higiene y Sanidad Pecuarias**, Fundador F. Gordon Ordas, España, Madrid, tomo XXIV, Agosto – Septiembre 1934, 166 p.
- **Tratado de Criminalística Tomo II La Química Analítica en la Investigación**, Argentina, Editorial Policía Federal, 1983, 487 p.
- **Trabajo de Método de Determinación de Antígenos de Grupos en Manchas Secas**, Boletín Informativo Nro. 1, Superintendencia de Policía Científica La Plata, 09 de Mayo de 2006, 17 p.
- [divisiónquimicalegalmdp@hotmail.com](mailto:divisiónquimicalegalmdp@hotmail.com)
- [labquimpericial@mseg.gba.gov.ar](mailto:labquimpericial@mseg.gba.gov.ar)
- [ed-larocca@sinectis.com.ar](mailto:ed-larocca@sinectis.com.ar)
- [www.cienciasforenses.cl/csi](http://www.cienciasforenses.cl/csi)
- [www.sanjor.com.ar](http://www.sanjor.com.ar)

