

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

*Validation of techniques for detection of blood, human blood and sanguineous group ABO under different supports and conditions with forensic purposes.*

---

---

MR. Villegas<sup>1</sup>, ML. Acevedo<sup>2</sup>, J. Miranda<sup>1</sup> y EA. Pinto<sup>3</sup>

---

---

## RESUMEN

Las manchas encontradas en la escena del crimen se han constituido como elemento esencial en la resolución de investigaciones judiciales. Establecer su origen y grupo sanguíneo aporta información útil en el proceso de inclusión o exclusión de sospechosos o víctimas. En este estudio se evaluaron pruebas presuntivas de Piramidón, Luminol y Fenoltaleina con el fin de determinar su sensibilidad e interferencia frente a diferentes condiciones de soporte, temperatura, tiempo y ambiente. Además se evaluaron las mismas condiciones para los test de Takayama, Inhibición de la aglutinación y Absorción-elución que determinan el origen de la sangre y tipifican su grupo sanguíneo. Tanto las pruebas presuntivas como las confirmatorias no se ven afectadas en su mayoría al variar los soportes, la temperatura o las condiciones ambientales bajo las cuales fueron almacenadas. Respecto a la sensibilidad se encontró que en las pruebas presuntivas es alta en contraposición a las confirmatorias que requieren de muestras que no hayan sido sometidas a diluciones o lavados.

**Palabras clave:** Manchas de sangre, Luminol, Fenoltaleina, Piramidón, Takayama, Inhibición de la aglutinación, Absorción-elución.

Cuad Med Forense 2005; 11(42):267-274

Este trabajo fue realizado con recursos de la Dirección Central de Policía Judicial (DIJIN),  
Policía Nacional de Colombia

## ABSTRACT

Blood stains found at the scene of the crime have become an essential element when solving judicial investigations. To establish its origin and sanguineous group contributes to useful information in the inclusion process or exclusion of suspects or victims. In our study, we examined the Pyramidone, Luminol, and Phenolphthalein presumptive tests in order to establish their sensitivity (with different degrees of interference) and in different support, temperature, time, and storage conditions. The same was carried out to evaluate the agglutination inhibition, absorption-elution and Takayama tests, also used to establish blood origin and type group. In general terms, both the presumptive and the confirmatory tests were not affected in the different supports, temperature, time, and storage conditions we used. As far as sensitivity is concerned, we found that the presumptive tests remained high, while confirmatory tests required samples which had not been subject to dilutions or washings.

**Key words:** Blood stains, Luminol, Phenolphthalein, Pyramidone, Takayama, agglutination inhibition, absorption-elution.

---

Fecha de recepción: 1.JUN.06

Fecha de aceptación: 24.JUL.06

**Correspondencia:** María del Rosario Villegas Guio. Teléfono: 057 1 4266286. Fax: 057 1 4266288.  
Correo electrónico: acrimbiologia@dijin.policia.gov.co.

<sup>1</sup> Bacterióloga, Laboratorio de Genética Forense, Dirección Central de Policía Judicial (DIJIN), Policía Nacional de Colombia.

<sup>2</sup> Bacterióloga, MSc, Lab. de Genética Forense, Dirección Central de Policía Judicial (DIJIN), Policía Nacional de Colombia.

<sup>3</sup> Odontólogo, Laboratorio de Genética Forense, Dirección Central de Policía Judicial (DIJIN), Policía Nacional de Colombia.

## INTRODUCCIÓN:

El hallazgo de sangre en manchas obtenidas en las escenas de las investigaciones forenses juega un papel fundamental en la resolución de los casos criminales. Además de la identificación de sangre proveniente de un ser humano se puede tipificar el grupo sanguíneo al que pertenece y posteriormente realizar análisis de ADN [1]. Entre las técnicas más utilizadas están las de Luminol, Fenolftaleína y Piramidón, como indicadores de la existencia de sangre, Takayama para confirmar su presencia, Inhibición de la Aglutinación para comprobar si la sangre es humana y Absorción-Elución para determinar el grupo ABO de la muestra [2]. Aunque son ampliamente utilizadas es importante establecer su sensibilidad y efectividad cuando las muestras han sido sometidas a diferentes condiciones ambientales en diferentes soportes en vista que la mayoría de casos en criminalística presentan evidencias biológicas de diversos orígenes [3].

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

## MATERIAL Y MÉTODO:

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

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

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

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

**Test de Fenolftaleína y Luminol.** Estas técnicas se realizaron con el método descrito por Cox, M en 1991 [3] para Fenolftaleína y Castello, A et al. en 2002 [4] para Luminol.

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

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

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

### **3. Test de Takayama.**

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

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

**Test de Takayama.** Con una hoja de bisturí se hizo un raspado de la mancha con el fin de obtener pequeñas escamas, las cuales se colocaron entre lámina y laminilla. Luego se agregó por capilaridad una gota del reactivo de Takayama dejando en reposo de 10 a 20 minutos. Se observó al microscopio con objetivo de 10X y 40X incluyendo controles positivos y negativos.

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

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

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

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

### **5. Absorción - Elución.**

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

**Método de absorción-elución.** Esta prueba se llevó acabo siguiendo el descrito por Nishi, K en 1985 [5].

## **RESULTADOS:**

Los resultados se muestran en las tablas 1 a 9.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Tabla 7. Sensibilidad de la técnica de Inhibición de la aglutinación. -/-: Indica sangre humana, +/-: Dudoso, +/+ : No corresponde a sangre humana.

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

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

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

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

## DISCUSIÓN:

El test de Piramidón demostró ser una excelente prueba presuntiva en diferentes soportes y condiciones. Los resultados indican que hay que ser cuidadoso en su interpretación cuando las muestras han sido enterradas. No se observaron resultados falsos positivos al analizar sustancias con apariencia similar a la sangre. Para manchas que han sido sometidas a lavado con agua o detergentes el Luminol se muestra superior en su detección al Piramidón.

Cuando se compara la sensibilidad de los 3 test presuntivos se observa que el más sensible es el Luminol (Hasta 1/500.000) seguido de Fenolftaleína (Hasta 1/5.000). Estos resultados son similares a los descritos por Cox, M. en 1991 para Fenolftaleína.

El test de Takayama se ve afectado cuando la muestra ha sido expuesta a temperaturas altas sin importar el tiempo de exposición. La inhibición de la aglutinación se vio alterada cuando las muestras fueron enterradas y su soporte era Seda o Satín. La sensibilidad de las dos pruebas anteriores es muy baja, detectando presencia de sangre y sangre humana en muestras diluidas hasta 1/100. Se confirma que se requiere abundante cantidad de muestra para obtener un resultado confiable.

La técnica de Absorción-elución para determinar el grupo sanguíneo se vio afectada principalmente por el soporte de tela Jean delgada o gruesa. La temperatura de almacenamiento elevada (60°C) solo alteró el algodón luego de un mes de recogida la muestra. Katsuji, N. et al. reportó que los antígenos son termoestables inclusive cuando han sido purificados. El tiempo de almacenamiento no afectó los resultados confirmándose lo referido por el mismo artículo. La sensibilidad de esta prueba se ve afectada cuando las muestras son diluidas en concordancia con otros reportes donde se encuentran resultados discrepantes cuando se trabaja con muestras húmedas [12].

## CONCLUSIONES:

Las pruebas presuntivas y confirmatorias son una herramienta útil en el estudio de manchas de sangre en casos de investigación judicial.

El Luminol se constituye como la prueba más apropiada en el estudio de posibles manchas de sangre sobre los test de Piramidón y Fenolftaleína.

Las pruebas confirmatorias no se ven afectadas por las condiciones de exposición de las muestras o el soporte pero su sensibilidad es baja.

## AGRADECIMIENTOS:

A la empresa VERITAS Química Forense por el suministro de los reactivos para los test de Luminol y Fenolftaleína. □

**BIBLIOGRAFÍA:**

1. Budowle B., Leggitt JL., Defenbaugh DA, Keys KM, Malkiewicz, SF. The Presumptive Reagent Fluorescein for Detection of Dilute Bloodstains and Subsequent STR Typing of Recovered DNA. *J Forensic Sci.* 2000; 45(5): 1090-1092.
2. Gisbert JA., Villanueva E. *Medicina legal y toxicología*. 6a Ed. Masson, Barcelona, 2004.
3. Cox M. A Study of the Sensitive and Specificity of Four Presumptive Tests for Blood. *J Forensic Sci.* 1991; 36(5): 1503-1511.
4. Castelló PA, Álvarez SM, Feucht M, Verdú-Pascual FA. Revelado de Manchas Latentes: Efectividad del Luminol y Evaluación de su Efecto Sobre el Estudio del DNA. *Cuad Med Forense.* 2002; 28: 33-36.
5. Nishi K, Ito N, Mizumoto J, Wada K, Tsuji T, Kimura A. Reliability of blood grouping of aged blood to direct hemagglutination methods and absorption elution method. *Nippon Hoigaku Zasshi.* 1985; 39(2): 131-137.
6. Escrito HTML: Serology Forensic. Recuperado el 21 Jul. 2006 <http://faculty.ncwc.edu/toconnor/425/425lect13.htm>.
7. Castelló A, Álvarez M. Estudio de la Especificidad del Luminol. *Revista Brasileira de Medicina Legal.* 2004; 3(5).
8. Castelló A, Verdú PF. Critical Revision of Presumptive Tests for Bloodstains. *Forensic Science Communications.* 1999; 1(2).
9. Della Manna A, Montpetit S. A Novel Approach to Obtaining Reliable PCR Results from Luminol Treated Bloodstains. *J Forensic Sci.* 2000; 45(4): 886-890.
10. Gross AM, Harris KA, Kaldun GL. The Effect of Luminol on Presumptive Tests and DNA Analysis Using the Polymerase Chain Reaction. *J Forensic Sci.* 1999; 44(4): 837-840.
11. Kent JM, Elliot DA, Miskelly GM. Inhibition of Bleach-Induced Luminol Chemiluminescence. *J Forensic Sci.* 2003; 48(1): 64-67.
12. Nishi K, Rand S, Nakagawa AY, Yamasaki S, Yamamoto Y, Kobayashi A, Kane M, Morimoto A, Spalthoff H, Annuss B. ABO Blood Typing from Forensic Materials - Merits and demerits of detection methods utilized in our laboratories, and biological significance of the antigens. *Anil Aggrawal's Internet Journal of Forensic Medicine and Toxicology [serial online]*,2005;6(2). [http://www.geradts.com/anil/ij/vol\\_006\\_no\\_002/papers/paper001.html](http://www.geradts.com/anil/ij/vol_006_no_002/papers/paper001.html)