



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

IMPORTANCIA DE LA HEMATOLOGÍA FORENSE EN EL ANÁLISIS
DESCRIPTIVO Y COMPARATIVO DE IDENTIFICACIÓN DE MANCHAS
DE SANGRE CON FINES FORENSES

MALACATUS VÁSCONEZ JOSE DAVID
BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

MACHALA
2021



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

IMPORTANCIA DE LA HEMATOLOGÍA FORENSE EN EL
ANÁLISIS DESCRIPTIVO Y COMPARATIVO DE
IDENTIFICACIÓN DE MANCHAS DE SANGRE CON FINES
FORENSES

MALACATUS VÁSCONEZ JOSE DAVID
BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

MACHALA
2021



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

EXAMEN COMPLEXIVO

IMPORTANCIA DE LA HEMATOLOGÍA FORENSE EN EL ANÁLISIS DESCRIPTIVO
Y COMPARATIVO DE IDENTIFICACIÓN DE MANCHAS DE SANGRE CON FINES
FORENSES

MALACATUS VÁSCONEZ JOSE DAVID
BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

SEGURA OSORIO MARISELA BRIGITTE

MACHALA, 27 DE ABRIL DE 2021

MACHALA
27 de abril de 2021

IMPORTANCIA DE LA HEMATOLOGÍA FORENSE EN EL ANÁLISIS DESCRIPTIVO Y COMPARATIVO DE IDENTIFICACIÓN DE MANCHAS DE SANGRE CON FINES FORENSES

por José David Malacatus Vásconez

Fecha de entrega: 18-may-2021 03:21p.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 1588373894

Nombre del archivo: O_DE_IDENTIFICACION_DE_MANCHAS_DE_SANGRE_CON_FINES_FORENSES.docx
(101.14K)

Total de palabras: 3507

Total de caracteres: 20311

CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

El que suscribe, MALACATUS VÁSCONEZ JOSE DAVID, en calidad de autor del siguiente trabajo escrito titulado Importancia de la hematología forense en el análisis descriptivo y comparativo de identificación de manchas de sangre con fines forenses, otorga a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tiene potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

El autor declara que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

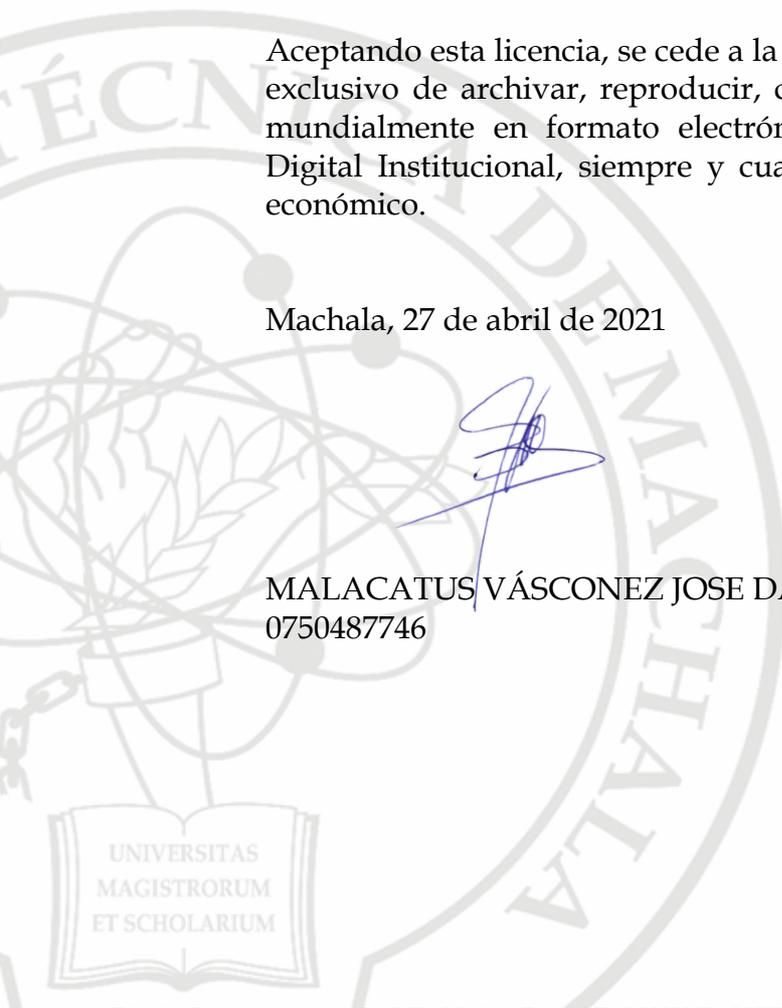
El autor como garante de la autoría de la obra y en relación a la misma, declara que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asume la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.

Machala, 27 de abril de 2021



MALACATUS VÁSCONEZ JOSE DAVID
0750487746



UNIVERSITAS
MAGISTRORUM
ET SCHOLARIUM

DEDICATORIA

En primer lugar, quiero dedicar este trabajo a DIOS, por haberme permitido llegar hasta estas instancias, lo cual es muy valioso para mí, y por haberme dado salud para lograr mis objetivos.

En segundo lugar, se lo dedico a mi Madre, ya que ella me apoyó en todo momento, brindándome sus consejos, sus valores y motivación.

También quiero dedicar este trabajo a la Universidad Técnica de Machala, y en especial a los maestros que aquí laboran, por permitirme ser parte de tan noble institución y de una generación de triunfadores, que luego aportarán todos sus conocimientos en beneficio del país.

AGRADECIMIENTO

Antes que nada, quiero mencionar el arduo esfuerzo y dedicación que requirió la elaboración del presente trabajo, el mismo que no hubiese sido posible sin la cooperación desinteresada de todas y cada una de las personas que me apoyaron en todo momento, y muchas de las cuales han sido soporte muy fuerte que me han ayudado a sobresalir.

En primer lugar, quiero agradecer a DIOS, por estar conmigo en todo momento, por darme fortaleza, paciencia, perseverancia e iluminar mi mente, y lo más importante, por haber puesto en mi camino a aquellas personas que me acompañaron y apoyaron desinteresadamente en todo momento.

El agradecimiento más grande es para mi Madre, porque es la persona más importante e incondicional para mí, ella ha estado presente en cada evento bueno o malo de mi vida, y este no fue la excepción.

Agradezco a mi tutora, la Dra. Marisela Segura, por dedicar su tiempo y estar muy pendiente en todo momento, guiándome a lo largo de este proceso de titulación. Sus conocimientos y experiencias han sido de gran ayuda para la culminación de este trabajo investigativo.

RESUMEN

La hematología forense es aplicada en la reconstrucción de un delito e identificación de manchas de sangre, por ser la evidencia que con mayor frecuencia se encuentra en una escena del crimen, aportando información valiosa y detallada de cosas muy específicas para el esclarecimiento de un hecho delictivo. Nuestro objetivo fue demostrar la importancia de la hematología forense a través del análisis descriptivo y comparativo para la investigación e identificación de manchas de sangre dentro del peritaje químico-forense. La metodología empleada es de carácter descriptiva, porque se describió la importancia de la hematología forense y sangre como evidencia de un delito penal, así como métodos para su respectivo análisis, a través de fuentes bibliográficas indexadas en revistas oficiales como Redalyc, Scielo, Dialnet, EBSCO. Por lo cual concluimos que la hematología forense permite reconstruir una escena del crimen e identificar a los involucrados mediante el análisis de sangre, empleando métodos y técnicas específicas. El estudio de manchas de sangre, comienza con pruebas de orientación, acompañado de un análisis de certeza. Para los casos de manchas de sangre latente se emplean métodos reveladores, como luminol, bluestar, lucerol, en caso de manchas de sangre líquida, seca o coágulos, se realizan métodos colorimétricos de orientación, y métodos cristalográficos de certeza, además de métodos inmunocromatográficos, y tipificación de ADN mediante PCR, para individualizar involucrados. Finalmente podemos señalar que la espectroscopía de Raman es un método fiable y no destructivo, que ofrece ventajas sustanciales sobre las técnicas actuales de manchas de sangre, en investigaciones forenses.

Palabras claves: espectroscopía de Raman, hematología forense, manchas de sangre, métodos de orientación, métodos de certeza.

ABSTRACT

Forensic hematology is applied in the reconstruction of a crime and identification of blood stains, as it is the evidence that is most frequently found at a crime scene, providing valuable and detailed information on very specific things for the clarification of a criminal act. Our objective was to demonstrate the importance of forensic hematology through descriptive and comparative analysis for the investigation and identification of blood stains within the forensic-chemical expertise. The methodology used is descriptive, because the importance of forensic hematology and blood as evidence of a criminal offense was described, as well as methods for their respective analysis, through bibliographic sources indexed in official journals such as Redalyc, Scielo, Dialnet, EBSCO. Therefore, we conclude that forensic hematology allows us to reconstruct a crime scene and identify those involved through blood analysis, using specific methods and techniques. The study of blood spots begins with orientation tests, accompanied by a certainty analysis. For the cases of latent blood stains, revealing methods are used, such as luminol, bluestar, lucerol, in the case of stains of liquid, dry blood or clots, colorimetric orientation methods are used, and crystallographic methods of certainty, in addition to immunochromatographic methods, and DNA typing by PCR, to identify those involved. Finally, we can point out that Raman spectroscopy is a reliable and non-destructive method that offers substantial advantages over current bloodstain techniques in forensic investigations.

Keywords: Raman spectroscopy, forensic hematology, blood stains, orientation methods, certainty methods.

ÍNDICE

RESUMEN	3
1. INTRODUCCIÓN	6
2. OBJETIVOS	7
2.1. OBJETIVO GENERAL	7
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	7
3. DESARROLLO	8
3.1. Hematología Forense y sus ramas	8
3.2. Utilidad de la sangre en investigaciones forenses	8
3.2.1. Tipos de manchas de sangre	9
3.3. Recolección y conservación de muestras de sangre	9
3.3.1. Procedimiento para la recolección de sangre en una escena del crimen	10
3.4. Técnicas empleadas en el estudio de manchas de sangre	11
3.4.1. Pruebas de Orientación	11
3.4.2. Pruebas de Certeza	12
3.5. Espectroscopia de Raman - Método Confirmatorio	13
3.6. Clasificación de técnicas en el análisis hematológico, de acuerdo al tipo de mancha de sangre	14
4. CONCLUSIONES	15
5. BIBLIOGRAFÍA	16
6. ANEXOS	19

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla Nº 1. Manchas de sangre que se puede encontrar en una escena del crimen	9
Tabla Nº 2: Recolección de manchas de sangre, seca, líquida, coágulo y latente.	10
Tabla Nº 3: Técnicas de Orientación y Certeza	11

1. INTRODUCCIÓN

La hematología forense es una rama de la medicina que se aplica al campo forense, donde se emplean conocimientos hematológicos, biológicos y criminalísticos. Su estudio se basa en la morfología, serología y bioquímica de la sangre, así como sus requisitos legales en la recaudación, protección e investigación de las evidencias¹. La hematología forense se divide en dos grandes ramas o líneas de investigación: hematología forense reconstructiva y hematología forense identificadora, este último comprende la identificación humana, paternidad y filiación².

La sangre es la muestra biológica que con mayor frecuencia se encuentra entre los rastros de una escena del crimen, y su hallazgo contribuye a información de mucha importancia enmarcada a investigaciones forenses³. En un hecho delictivo, la sangre puede contribuir con información relevante como el número de personas que han participado en el acto, el tiempo en el que ha sucedido, que objetos se han empleado y quienes lo han hecho, es decir, se puede identificar al agresor o agresores, se identifica a la víctima y cuál ha sido el móvil de la muerte⁴.

El valor del análisis de manchas de sangre es de gran utilidad en criminalística, lo que implica una constante actualización de nuevas técnicas que aporten mayor validez en el menor periodo posible para ser efectuadas en investigaciones de biología forense. La importancia de su estudio se encuentra en el esclarecimiento de cuantiosas investigaciones delictivas y judiciales⁵.

Las pruebas de laboratorio más empleadas en el análisis de manchas de sangre son los métodos de orientación en los cuales encontramos pruebas físicas y colorimétricas⁶, por otra parte, existen métodos de certeza entre ellos está el análisis microscópico, cristalográfico, cromatográfico y determinación del grupo sanguíneo y factor Rh de sangre¹. Los métodos de orientación o presuntivos tienen gran sensibilidad, sin embargo pueden llegar a ser poco específicas, lo que implica la utilización de pruebas de certeza que son más específicas y complementan la sensibilidad de las pruebas de orientación⁷.

La importancia del tema en estudio es destacar la relevancia y la apremiante necesidad de poner en práctica de estudios que contribuyan a analizar la cadena de hechos, la perspectiva de las víctimas/victimarios, y una factible reproducción forense de los sucesos en casos criminales donde las manchas de sangre sea un factor primordial en el esclarecimiento de los hechos⁸.

El aporte científico de este trabajo es investigar distintos métodos que pueden ser aplicados para la identificación de manchas de sangre, debido a que estas muestras se encuentran con mayor frecuencia en una escena del crimen y se constituye como componente principal en la resolución de investigaciones judiciales⁹. Además, un correcto procedimiento en la manipulación de estas muestras biológicas, conlleva a un esclarecimiento más específico en una investigación forense¹⁰.

El trabajo de investigación presenta como objetivo demostrar la importancia de la Hematología Forense en el estudio de manchas de sangre. Así mismo presenta objetivos auxiliares al describir los tipos de manchas de sangre y métodos para su identificación, así como la determinación del procedimiento de recolección para su respectivo análisis.

“La aplicación de nuevas técnicas identificadoras de sangre como la Espectroscopia de Raman ofrece ventajas sustanciales sobre las técnicas actuales en manchas de sangre al ser un método no invasivo que garantiza la integridad de la muestra”.

Independientemente de cuál sea el método, la sangre puede aportar información valiosa y detallada de cosas muy específicas, como la procedencia de la sangre, es decir si es humana o no, permite obtener información del ángulo de impacto de la sangre en la superficie, así como el reconocimiento de objetos e involucrados (víctima/s, victimario/s y animales) en la escena del crimen^{3,4,11}.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GENERAL

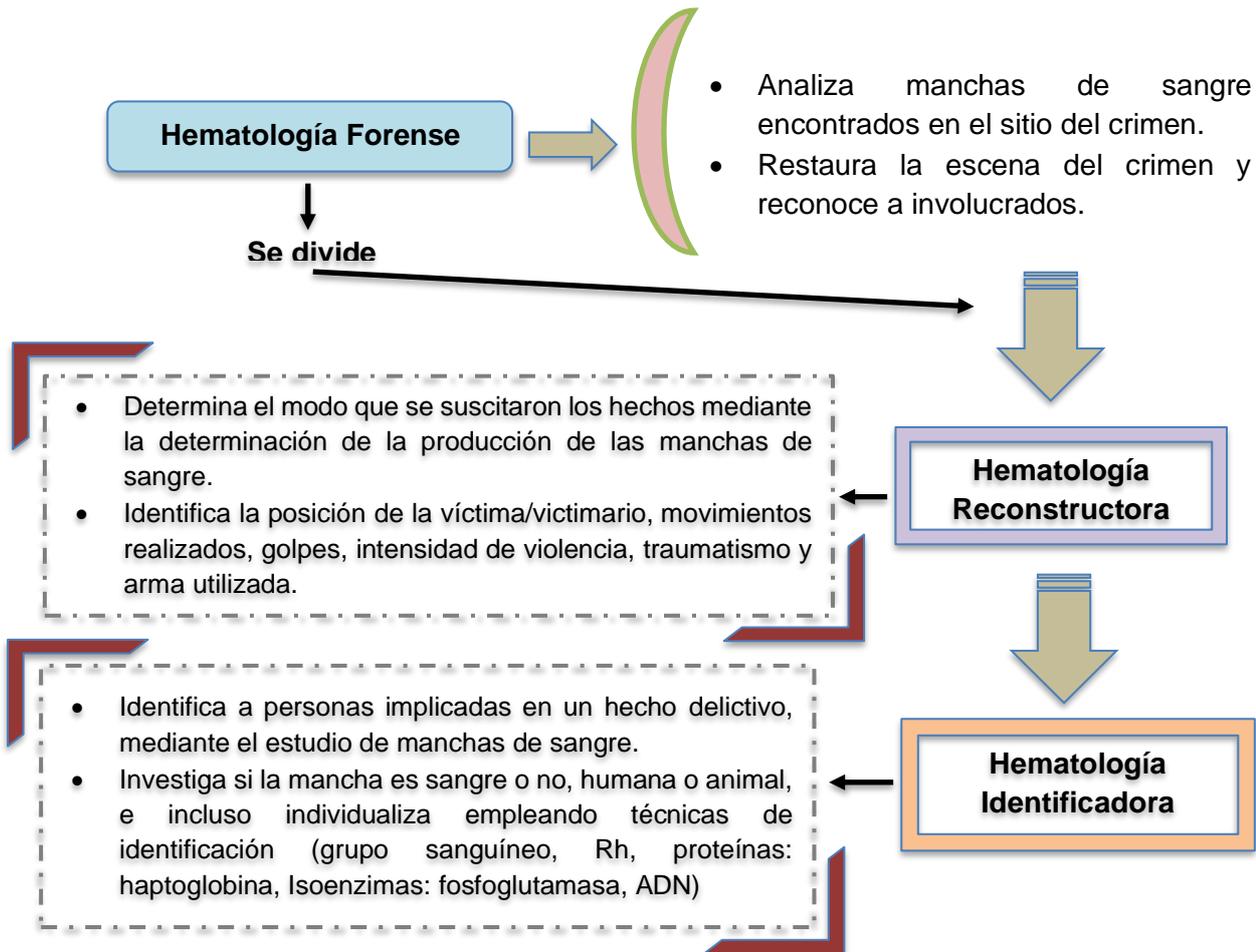
Demostrar la importancia de la Hematología Forense a través del análisis descriptivo y comparativo para la investigación e identificación de manchas de sangre dentro del peritaje químico-forense.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a)** Describir los tipos de manchas de sangre y su relevancia en el marco de investigaciones forenses.
- b)** Determinar el procedimiento para la recolección de manchas de sangre y análisis de técnicas más empleadas.
- c)** Clasificar métodos de acuerdo al tipo mancha de sangre recolectada en la escena del crimen.

3. DESARROLLO

3.1. Hematología Forense y sus ramas



Fuente:^{1,2,12}

3.2. Utilidad de la sangre en investigaciones forenses

- Permite reconstruir la dinámica de acontecimiento de hechos violentos.
- Aporta información valiosa y detallada de cosas muy específicas que podría ser determinante en la investigación policial, por ejemplo: determinar si las heridas fueron producidas en vida o post-mortem.
- Permite obtener información, como el ángulo de impacto en la superficie.
- Reconocimiento de objetos utilizados en la escena.
- Lugar de ubicación de los involucrados, cantidad de sucesos y el periodo transcurrido entre ellos.
- La procedencia de la sangre, es decir si es humana o animal, e incluso, individualiza definiendo al agresor.

Es decir, si en la escena del crimen se hallan vestigios de sangre, es muy seguro que un hecho delictivo se esclarezca^{4,3,8}.

3.2.1. Tipos de manchas de sangre

Tabla N°1. Manchas de sangre que se puede encontrar en una escena del crimen

<p>Manchas Líquidas</p> <p>Son manchas frescas, de origen reciente con coloración característica, rojo brillante.</p>	<p>Manchas Secas</p> <p>Manchas de sangre que han permanecido por largo tiempo expuestos al ambiente. Por lo general se describe como una mancha de color pardo rojiza</p>
<p>Manchas Latentes</p> <p>Manchas de sangre que son imperceptible al ojo humano. Su presencia se debe al intento de eliminar evidencias en la escena del crimen, limpiando, pintando, con el objetivo de ocultar su existencia.</p>	<p>Coágulos de Sangre</p> <p>Son masas de sangre presentes en la escena del crimen que se endurece y pasan de líquidas a sólidas (5-20seg). Provee de información del tiempo ocurrido del hecho</p>

Fuente:^{4,12}

3.3. Recolección y conservación de muestras de sangre.

La investigación en la escena del delito se basa en conocer, preservar, examinar y asegurar el lugar de los hechos y enviar las evidencias al Departamento de Ciencias Forenses (DCF). Las investigaciones técnico científica radica en analizar, y efectuar los respectivos estudios de los indicios o muestras halladas. Los distintos indicios encontrados deben contar con su correspondiente cadena de custodia y con su respectiva petición de dictamen pericial expresada por una autoridad judicial (Fiscalía, Juzgado, Tribunal de Juicio)^{13,14,15}.

3.3.1. Procedimiento para la recolección de sangre en una escena del crimen

Tabla N° 2: Recolección de manchas de sangre, seca, líquida, coágulo y latente.

<p>Manchas de sangre seca</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Colocar sobre la mancha de sangre un hisopo humedecido con solución salina o agua estéril, hasta que la sangre se impregne en él. 2. Para evitar la contaminación de la muestra, secar y guardar en un lugar limpio y aislado. 3. Luego de secar, guardar en su correspondiente embalaje sellado, por separado y con sus respectivos datos. 4. Hasta el envío al laboratorio, conservar a temperatura ambiente.
<p>Manchas de sangre seca sobre objetos no transportables</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Si puede rasparse, con ayuda de un bisturí estéril, raspar la mancha. Si son varias, usar para cada mancha un bisturí. 2. Colocar el raspado de cada mancha en su correspondiente sobre de papel o en un eppendorf. 3. Embalar con sus respectivos sellos de seguridad definido por el rector del sistema en el Manual de Cadena de custodia
<p>Manchas de sangre líquida</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. En papel FTA impregnar la muestra, y secar en un lugar seco y libre de contaminación. 2. Embalarlo y mantenerlo a temperatura ambiente hasta su envío al laboratorio. 3. Adicionalmente, tomar con una jeringuilla muestra, y traspasar a un tubo con anticoagulante (EDTA), y otro sin anticoagulante (tubo tapa roja).
<p>Manchas de sangre sobre artículos transportables</p>	<ol style="list-style-type: none"> a) Sangre húmeda: secar en un sitio sin exponer al sol, sobre una superficie limpia y aislada. b) Sangre sobre ropa: doblar para proteger la mancha. Embalar por separado cada muestra, en bolsas de papel, etiquetar y enviar al centro de almacenamiento respectivo. c) Sangre sobre soportes recortables: pueden ser, cortinas, alfombras, etc. Proceder a recortar y embalar la mancha en bolsas de papel, etiquetar y enviar al laboratorio respectivo.
<p>Presencia de Coágulos de Sangre</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Con ayuda de una espátula estéril, levantar el coágulo de sangre. Si se trata de varias muestras, utilizar una para cada coágulo. 2. Proceder a colocarlos en tubos sin anticoagulante (tubo tapa roja), o en un eppendorf o recipiente estéril.
<p>Manchas latentes</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Si en la escena del crimen, se aprecia que el sitio de investigación ha sido lavado o a simple vista no se observa sangre, proceder a la identificación de la sangre empleando técnicas reveladoras de orientación como Luminol, Bluestar. 2. Proceder a la extracción de ADN del indicio obtenido con reactivos y equipos estandarizados a nivel internacional. 3. Un método es el uso de CHELEX 100 para la purificación y extracción de ADN mediante intercambio iónico.

Fuente: ^{16,17,18,19}

3.4. Técnicas empleadas en el estudio de manchas de sangre

3.4.1. Pruebas de Orientación

Tabla N°3: Técnicas de Orientación y Certeza

PRUEBAS DE ORIENTACIÓN O PRESUNTIVAS		
	Fundamento	Ventajas
Luminol	El contacto del grupo prostético de la hemoglobina de los eritrocitos humanos con el peróxido de hidrógeno produce la quimioluminiscencia (coloración azul intensa).	<ul style="list-style-type: none"> No interfiere con la identificación de ADN. Detecta trazas de sangre antiguas y ocultas. Detecta presencia de sangre aun cuando se ha limpiado o alterado la evidencia. Sensibilidad de detección, dilución 1:100.00.
		<p style="text-align: center;">Desventajas</p> <ul style="list-style-type: none"> Requiere de total oscuridad. No es específica, puede reaccionar con otros compuestos (fluidos biológicos, algunos metales, plantas, productos blanqueantes). La vida útil del producto es limitada. Tiempo de quimioluminiscencia 30 segundos a 3 minutos
Bluestar	Oxidación de fluoresceína catalizada por el grupo Hemo de la Hemoglobina de la sangre en presencia de peróxido de hidrógeno.	<p style="text-align: center;">Ventajas</p> <ul style="list-style-type: none"> No requiere de total oscuridad. Mayor quimioluminiscencia. Uso repetido en la misma muestra biológica. No interfiere con el ADN. No es tóxico. Sensibilidad de 1:1.000.000 diluciones.
		<p style="text-align: center;">Desventajas</p> <ul style="list-style-type: none"> Requiere de luz fluorescente específica. Puede dar falsos positivos al reaccionar con otros compuestos. Vida útil prolongada. Inestable térmicamente, se degrada con la luz.
Lucerol	Reacción de color entre amarillo y verde al entrar en contacto con el grupo Hemo de la Hemoglobina.	<p style="text-align: center;">Ventajas</p> <ul style="list-style-type: none"> No requiere de completa oscuridad. Vida útil prolongada Sensibilidad de 1:10.000 diluciones
		<p style="text-align: center;">Desventajas</p> <ul style="list-style-type: none"> Requiere de luz fluorescente específica (450nm). Puede alterar el ADN.
MÉTODOS COLORIMÉTRICOS		
	Fundamento	Características
Bencidina (Alder)	Oxidación de bencidina en medio ácido, formación de coloración azul, con viraje a marrón.	<ul style="list-style-type: none"> Enzima peroxidasa en sangre descompone el peróxido de hidrógeno, oxidando a bencidina produciendo coloración azul. Permite identificar presencia de sangre, pero no su naturaleza. Reactivo carcinógeno, uso de equipo de protección personal. Elevada sensibilidad en manchas hemáticas diluidas. 1/200.000 y 1/1.000.000. Arroja falsos positivos al contacto con sustancias con actividad similar a peroxidasa (jugo de frutas, metales, blanqueadores).

Kastle Meyer (Fenoltaleína)	Reacción en medio alcalino con reducción a fenoltaleína incolora.	<ul style="list-style-type: none"> • Resultado positivo da coloración fucsia o rosa. • Reactivo termolábil, debe guardarse en refrigeración en frasco ámbar. • Para evitar interferencias se calienta a 100 °C. • Manchas hemáticas resultan positivas luego de meses de producirse. • No es cancerígena. • Sensibilidad de: 1/1.000.000 a 10.000.000.
Leuco malaquita verde	Reacción de oxido-reducción en presencia de peroxidases.	<ul style="list-style-type: none"> • La forma leuco se prepara por reducción de la malaquita verde. • Se oxida y produce coloración verde. • Menos sensible que la bencidina.
TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS		
Características		
<ul style="list-style-type: none"> • Esta prueba pone en descubierto la hemoglobina y derivados empleando espectros de absorción en manchas hemáticas. • Se diluye la hemoglobina (oxihemoglobina) formandose dos bandas de absorción de 575 y 540 nm respectivamente. • No solo se identifica la oxihemoglobina. se somete a la muestra a una marcha espectral añadiendo gotas de sulfhidrato de amonio, produciendo el hemocromógeno con bandas de absorción entre 559 y 530nm. 		

Fuente: 1, 4, 6, 11, 20, 21, 22, 23

3.4.2. Pruebas de Certeza

MÉTODOS DE CERTEZA
Método Microscópico
<ul style="list-style-type: none"> • Permite apreciar los elementos celulares característicos de la sangre como glóbulos rojos, blancos y plaquetas. • Su análisis puede efectuarse en sangre líquida o proveniente de una maceración con solución salina. • La aplicación de este método depende de la conservación de la mancha de sangre y la correcta manipulación de la misma, por lo que son pocos los casos de su aplicación. • Si se trata de sangre de un mamífero, se observan glóbulos rojos sin núcleo.
Métodos Cristalográficos
Ensayo de Teichman
<ul style="list-style-type: none"> • Formación de cristales alargados de color pardo oscuro al transformarse la hemoglobina en hematina o clorhidrato de hemina en presencia de cloruro de sodio y ácido acético glacial en caliente. • La aparición de cristales se reconoce universalmente como la presencia de sangre en manchas secas. • Método más utilizado por la accesibilidad de reactivos y facilidad de aplicación
Ensayo de Takayama
<ul style="list-style-type: none"> • El reactivo Takayama es una combinación de piridina, glucosa e hidróxido de sodio, que en presencia de sangre forman cristales de hemocromógeno. • Al analizar en el microscopio se aprecian cristales de forma arborescente, semejantes a hojas de pino color naranja. • Para una decisión final se debe comparar la sustancia desconocida con una de referencia o control, bajo las mismas condiciones de temperatura, humedad y ambiente.

Determinación del Grupo Sanguíneo y Factor Rh
Muestra de sangre fresca/líquida
<ul style="list-style-type: none"> Se realiza el ensayo antígeno-anticuerpo directamente sobre la muestra de sangre fresca, determinándose el grupo sanguíneo: A,B, AB, O, y su factor Rh (+ o -).
Muestra de sangre seca
<ul style="list-style-type: none"> Método absorción-dilución: se hidrata la muestra por proceso de absorción, luego aplicando calor, se desprenden los componentes de los antígenos, procedimiento llamado elución. Este proceso se puede realizar porque los antígenos del sistema ABO no se desnaturalizan tan rápido. En este método no se determina grupo Rh, por lo que la muestra no es suficiente.
Método Inmunocromatográfico
<ul style="list-style-type: none"> Se utiliza para determinar la especie a la que pertenece la mancha de sangre. Detecta hemoglobina humana de forma específica, por resultado positivo con sangre de primate y algunos mustélidos (tejón, comadrejas). Se han obtenido resultados negativos en sangre de perro, gallina, cerdo, gato. Se afirma que el test es específico para hemoglobina humana, debido a que no muestra reacciones cruzadas con sangre de origen porcino o bovino. Para un resultado positivo se necesitan solo 250 glóbulos rojos. Su sensibilidad es de 1/1000 a 1.000.000. Estas pruebas son empleados comúnmente en el diagnóstico médico como, pruebas de embarazo, detección de VIH/Sífilis, sangre oculta en heces, Covid-19.
Prueba de ADN
<ul style="list-style-type: none"> Ampliamente utilizado en criminalística. El ADN provee de información importante como el sexo, y perfil de ADN de personas. <p>USOS:</p> <ul style="list-style-type: none"> Permite compara la secuencia de ADN con la obtenida en la escena del delito como homicidio, violación, secuestro, abandono de niños, además de evidencias tomadas de accidentes mortales. Su aplicación se efectúa luego de un proceso de identificación de manchas de sangre mediante pruebas de orientación y certeza. Estudio de paternidad.

Fuente: 1, 4, 5, 7, 24, 25, 26

3.5. Espectroscopia de Raman - Método Confirmatorio

Definición	<ul style="list-style-type: none"> Técnica fotónica, analiza de forma rápida estructuras químicas de elementos orgánicos o inorgánicos, haciendo medidas directamente sobre el material. Método no invasivo, ni destructivo que emplea un haz monocromático sobre la muestra, incidiendo sobre el material sin provocar alteraciones en este.
Aplicaciones	<ul style="list-style-type: none"> Forense, medicina, militar, farmacéutica, entre otros. Identificación de drogas, cabellos, explosivos, virutas de pinturas, tintes.
Aplicaciones Forenses	<ul style="list-style-type: none"> Su aplicación se extiende a este campo por su no destructividad de la muestra. Permite pronosticar de manera factible el origen no humano de manchas de sangre de otra especie animal desconocidas, analizando sus componentes principales.

	<ul style="list-style-type: none"> Las evidencias biológicas pueden ser analizadas directamente en el lugar del crimen con criterio confirmatorio, sin destruir la muestra. Puede acoplarse a un microscopio para observar y analizar con mejor precisión, la presencia de sangre o de otros componentes.
Ventajas del método	<ul style="list-style-type: none"> Permite realizar análisis en tiempo real/in-situ Su análisis sobre soluciones acuosas, muestras sólidas, líquidas, gases, transparentes, opacos o de cualquier tamaño es efectivo. Garantiza la integridad de la muestra. Proporciona espectros con buena resolución e intervalos espectral amplios. Se obtienen resultados confiables aun en ambientes con temperatura variable, altas o bajas.
Desventaja	<ul style="list-style-type: none"> Podría decirse que la principal desventaja de la técnica es la disminución de la sensibilidad por una débil dispersión Raman, sin embargo, esto se soluciona usando espectroscopia Raman de resonancia y espectroscopia Raman de superficie aumentada, que permiten aumentar la sensibilidad.

Fuente:^{27,28,29,30}

3.6. Clasificación de técnicas en el análisis hematológico, de acuerdo al tipo de mancha de sangre.

Muestra Método	Manchas Líquidas	Manchas Secas	Manchas Latentes
Orientación	<p>Aplicación In Situ</p> <ul style="list-style-type: none"> Técnicas colorimétricas <p>Laboratorio Forense</p> <ul style="list-style-type: none"> Espectroscopía UV - visible 	<p>Técnicas Colorimétricas Aplicación In Situ</p> <ul style="list-style-type: none"> Bencidina (Alder). Fenoltaleína (Kastle Meyer). Leuco malaquita verde 	<p>Aplicación In Situ</p> <ul style="list-style-type: none"> Luminol Bluestar Lucerol
Certeza	<p>APLICACION DIRECTA</p> <ul style="list-style-type: none"> Método inmunocromatográfico Determinación de grupo ABO y factor Rh PCR-ADN. Espectroscopía Raman. 	<p>APLICACIÓN DIRECTA</p> <ul style="list-style-type: none"> Prueba de Takayama. Prueba de Teichman Método microscópico óptico. Espectroscopía Raman. <p>APLICACIÓN INDIRECTA</p> <ul style="list-style-type: none"> Método inmunocromatográfico Determinación de grupo ABO y factor Rh PCR-ADN 	<p>APLICACIÓN INDIRECTA</p> <ul style="list-style-type: none"> PCR-ADN.

Fuente: Elaboración propia

4. CONCLUSIONES

- La sangre al ser la evidencia que con mayor frecuencia se encuentra en una escena del crimen, constituye un elemento de gran valor en investigaciones forenses, radicando su importancia en permitir reconstruir la escena del crimen e identificar a los involucrados, empleando métodos y técnicas específicas de acuerdo al tipo de evidencia encontrada (sangre líquida, manchas secas o costras, coágulos o manchas sanguíneas latentes).
- La evidencia hemática dentro de una pericia química forense, debe mantener el debido proceso durante todas las fases de la investigación, empezando desde el procedimiento de recolección, manteniendo el protocolo implementado dentro su país, con la correspondiente cadena de custodia y respectiva petición pericial expresada por una autoridad judicial, para ser admitidos en la investigación pericial y ser aceptadas por el juzgado.
- En la investigación de hematología forense identificadora siempre en primera instancia se realiza la determinación de pruebas de orientación o presunción para realizar el levantamiento de la evidencia en la escena del delito y posteriormente se procesan en el laboratorio forense las pruebas de certezas para confirmar o descartar la presencia de la mancha sanguínea en evidencia recolectada.
- Los métodos para identificar manchas de sangre latentes, se emplean reveladores como luminol, bluestar, lucerol y pruebas PCR. En casos de sangre líquida y seca se utilizan métodos colorimétricos de orientación, y métodos cristalográficos de certeza, además de métodos microscópicos e inmunocromatográficos para determinación de especie, este último también se aplica en pruebas de embarazos, enfermedades infectocontagiosas (VIH, sífilis, hepatitis, Covid entre otras), determinación de proteínas e isoenzimas (haptoglobina, fosfoglutamasa). Se emplean métodos específicos para la determinación de grupo ABO y Rh (método directo: sangre fresca, método indirecto: sangre seca, se aplica método absorción/dilución), y ADN por PCR, con la finalidad de individualizar a los involucrados (víctima/s, agresor/es y animales).
- La espectroscopía Raman es una técnica que se ha venido desarrollando en distintas áreas científicas, su aplicación se extiende al campo forense por ser un método no invasivo y mantiene intacta la integridad de la muestra, cabe señalar que se obtienen resultados confiables aún en ambientes con temperatura variable, además pronostica el origen de la sangre con la facilidad de analizarlas en tiempo real y su análisis puede aplicarse sobre muestras, líquidas, sólidas, y en otros casos en muestras transparentes, opacos e incluso cuando son gases. Por lo tanto, se puede decir que la Espectroscopía de Raman ofrece ventajas sustanciales sobre las técnicas actuales de manchas de sangre, en investigaciones forenses.

5. BIBLIOGRAFÍA

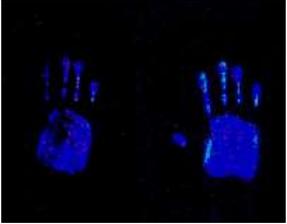
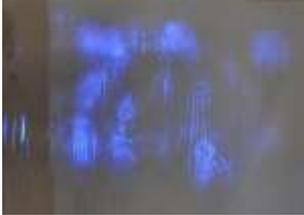
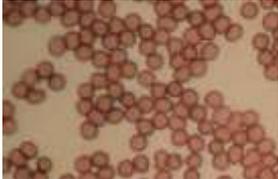
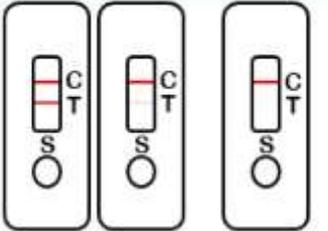
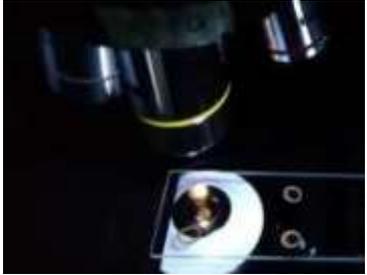
- (1) Nuñez, J. Aporte de La Hematología Al Campo Forense: Pruebas de Orientación y Certeza. *Rev. Skopein* **2016**, 4 (13), 32–40.
- (2) da Silva, A.; Mecês, B.; de Souza, M.; Lima, R.; Fonseca, M. Detecção e Análise de Sangue Humano Em Cena de Crimes Sexuais Simulados. *Brazilian J. og Dev.* **2021**, 7, 20368–20385. <https://doi.org/10.34117/bjdv7n2-603>.
- (3) Hernández, M. Manchas de Sangre y Sus Soportes. Cambios Morfológicos de Los Patrones. *Gac. Int. Ciencias Forenses* **2020**, 35, 31–42.
- (4) Sniegovski, M.; Bortolato, J.; Formolo, F. Manchas de Sangre: El Análisis de Su Patrón En La Escena Del Crimen. *Rev. Skopein* **2016**, 5 (14), 6–18.
- (5) Castillo, N.; Cortéz, J. Validación de La Prueba Confirmativa de Takayama Para Identificación de Sangre En Manchas. *Sci. Tech.* **2019**, 24 (1), 140–145. <https://doi.org/https://doi.org/10.22517/23447214.20431>.
- (6) Nuñez, J. Estrategia Didáctica Para El Aprendizaje de La Prueba de La Bencidina y Su Importancia Para Profesionales de Las Ciencias Forenses. *Educ. Química* **2020**, 31 (4), 75–85. <https://doi.org/10.22201/fq.18708404e.2020.4.72714>.
- (7) Castillo, N.; Martínez, S. TEICHMANN Prueba Confirmativa Para Identificación de Sangre En Manchas. *Sci. Tech.* **2020**, 25 (1), 158–163. <https://doi.org/10.22517/23447214.22301>.
- (8) Gutierrez, C. Análisis de Patrones de Manchas de Sangre y Su Importancia En La Investigación Forense Moderna. *Researchgate* **2018**, 2, 74–85.
- (9) Valdivieso, L.; Muñoz, A.; Navas, K. Identificación Del Área de Origen de Manchas Hemáticas En Una Escena de Crimen: Análisis Teórico. *Rev. ITCKNE* **2020**, 17 (1), 31–37. <https://doi.org/10.15332/iteckne.v17i1.2427>.
- (10) Villanueva, J.; Matamoros, M. Ciencias Forenses y Pruebas Presuntivas. *Rev. Ciencias Forencses Honduras.* **2017**, 2 (2), 45–54.
- (11) Ramsthaler, F.; Schlote, J.; Gehl, A.; Cappel-Hoffmann, S.; Kettner, M. Detectability, Visualization, and DNA Analysis of Bloodstains after Repainting the Walls. *Int. J. Legal Med.* **2018**, 132 (6), 1625–1634. <https://doi.org/10.1007/s00414-018-1892-7>.
- (12) Quispe, I. Determinación Del Volumen de Sangre a Partir de Manchas No Absorbentes Para Investigaciones de Interés Forense, Arequipa-2017. Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa. **2018**, 18-19. <https://bit.ly/3tmBACK>.
- (13) Rojas, F. Guía de Buenas Prácticas de Recolección de Indicios En El Escenario Del Delito, Según Las Normas de Calidad de Laboratorios Forenses. *Rev. Espiga* **2020**, 19 (39), 99–107. <https://doi.org/10.22458/re.v19i39.2897>.
- (14) Álvarez, G. Importancia de Los Servicios Técnico-Científicos Que Brinda El Instituto

- Nacional de Ciencias Forenses de Guatemala. *Gac. Int. Ciencias Forenses* **2019**, No. 33, 81–89.
- (15) Villatoro, E. Nociones Básicas de Ciencias Forenses Para Profesionales Del Derecho En Guatemala. *Gac. Int. ciencias forenses* **2017**, No. 24, 6–19.
- (16) FGE Ecuador. Instructivo Para La Toma de Muestras Biológicas. 1, (Acceso: 14 de marzo 2021).<http://bit.ly/30FLOlp>.
- (17) Mus, C. Técnicas Actuales Del Procesamiento de Manchas de Posible Sangre Encontradas En La Escena Del Crimen y Su Comparación Con La Metodología Empleada En Guatemala. Universidad Rafael Landívar. **2017**, 41-48. <https://bit.ly/30Gq4Gn>.
- (18) Villa, M.; Granda, J.; Gusmão, L.; Ibarra, A. Variación de Perfiles Genéticos Obtenidos Por PCR Con y Sin Extracción de ADN a Partir de Manchas de Sangre. *Actual. Biológicas* **2017**, 39 (106), 79–87. <https://doi.org/10.17533/udea.acbi.v39n106a08>.
- (19) FGE Ecuador. Estrategia de Atención Integral Para Enfretar La Situación de Personas Desaparecidas En Ecuador. (Acceso 16 de marzo 2021). <https://bit.ly/3cDt4IV>.
- (20) Hofmann, M.; Adamec, J.; Anslinger, K.; Bayer, B.; Graw, M.; Peschel; Schulz, M. Detectability of Bloodstains after Machine Washing. *Int. J. Legal Med.* **2019**, 133 (1), 3–16. <https://doi.org/10.1007/s00414-018-1897-2>.
- (21) Asencio, T. Luminol, El Compuesto Químico Que Arroja Luz Sobre La Escena Del Crimen. *Rev. Ciencias la Univ. Pablo Olavide* **2020**, No. 36, 31–32.
- (22) Mendoza, D.; Santos, J.; Paredes, W. Efecto Del Sustrato Sobre Las Pruebas De Orientacion Quimioluminiscentes (Bluestar Forensic Y Luminol) En La Detección De Restos Hemáticos. *Rev. Postgrado* **2017**, 3 (2), 59–65. <https://doi.org/10.26696/sci.epg.0061>.
- (23) Aparicio, E. Técnicas Colorimétricas. *Visión criminológica-criminalística* **2017**, 5 (18), 18–23.
- (24) Silva, G. A Importância Do Biomédico Na Biologia Molecular e Hematologia Forense. *Atas Ciências da Saúde* **2020**, 10, 166–175.
- (25) OBTI, H. Productos de Investigación Criminal y Forense. (Acceso:13 de marzo 2021).<http://bit.ly/3tjWToM>.
- (26) Villalobos, H. Las Pruebas de ADN En El Contexto Forense. *Ciencias Forenses de Honduras* **2017**, 3 (2), 28–38.
- (27) Cordero, E.; Latka, I.; Matthaus, C.; Schie, I.; J, P. In-Vivo Raman Spectroscopy: From Basics to Applications. *J. Biomed. Opt.* **2018**, 23 (07), 1–24. <https://doi.org/10.1117/1.jbo.23.7.071210>.
- (28) Nicolson, F.; Kircher, M.; Stone, N.; Matousek, P. Spatially Offset Raman Spectroscopy for Biomedical Applications. *Chem. Soc. Rev.* **2021**, 50 (1), 556–568.

<https://doi.org/10.1039/d0cs00855a>.

- (29) Suzuki, E.; Buzzini, P. Applications of Raman Spectroscopy in Forensic Science. II: Analysis Considerations, Spectral Interpretation, and Examination of Evidence. *Forensic Sci. Rev.* **2018**, *30* (2), 137–169.
- (30) Castellanos, Y.; Galindo, C. Análisis de La Espectroscopía Raman Para La Detección de La Diabetes. Universidad Católica de Colombia. **2020**, 45-46. (Acceso 17 de marzo 2021). <https://bit.ly/3>.
- (31) Lupica, R. Comparing Two Alternate Light Sources with Bluestar Forensic: Locating Blood in a Manipulated Crime Scene. *J. Forensic Identif.* **2017**, *67* (2), 190–204.
- (32) Liquitay, A. No Title. *React. para la Determ. sangre* **2017**, <https://prezi.com/lldxkns-s8ba/reactivos-para-la-d>.
- (33) Ortiz, G.; Cavalitto, S. Desarrollo de Un Sistema de Detección de Anticuerpos Contra COVID 19 Basado En El Principio de Inmunocromatografía. *Innovación y Desarro. Tecnológico y Soc.* **2020**, *2* (2), 51–64. <https://doi.org/10.24215/26838559e016>.

6. ANEXOS

MÉTODOS DE ORIENTACIÓN		
		
Fuente: ¹¹	Fuente: ³¹	Fuente: ¹
Anexo 1: Revelado con Luminol	Anexo 2: Revelado con Bluestar	Anexo 3: Revelado con Lucerol
Pruebas Colorimétricas		
		
Fuente: ⁶	Fuente: ¹	Fuente: ³²
Anexo 4: Reacción positiva de Bencidina (Alder)	Anexo 5: Reacción positiva de Kastle Meyer (Fenolftaleína)	Anexo 6: Reacción positiva de Leuco malaquita verde
MÉTODOS DE CERTEZA		
<p>1)</p>  <p>2)</p> 		
Fuente: ¹	Fuente: ⁴	Fuente: ⁵
Anexo 7: Método microscópico, 1) Sangre humana, 2) Sangre no humana.	Anexo 8: Método cristalográfico de Teichman	Anexo 9: Método cristalográfico de Takayama
<p>1)</p>  <p>2)</p> 	<p style="text-align: center;">POSITIVO NEGATIVO</p> 	
Fuente: ¹	Fuente: ³³	Fuente: ³⁰
Anexo 10: Determinación ABO. 1) Método directo, 2) Método indirecto	Anexo 11: Método Inmunocromatográfico	Anexo 12: Espectroscopía Raman