

UNIVERSIDAD RAFAEL LANDÍVAR
FACULTAD DE CIENCIAS JURÍDICAS Y SOCIALES
LICENCIATURA EN INVESTIGACIÓN CRIMINAL Y FORENSE

"IMPORTANCIA DE LA APLICACIÓN DE LA PRUEBA BLUESTAR FORENSIC EN MUESTRAS DE SANGRE EN INVESTIGACIÓN CRIMINAL Y FORENSE EN GUATEMALA."

TESIS DE GRADO

NORMA LETICIA CALDERÓN ZELEDÓN

CARNET 12218-18

GUATEMALA DE LA ASUNCIÓN, MARZO DE 2023
CAMPUS CENTRAL "SAN FRANCISCO DE BORJA, S. J." DE LA CIUDAD DE GUATEMALA

UNIVERSIDAD RAFAEL LANDÍVAR
FACULTAD DE CIENCIAS JURÍDICAS Y SOCIALES
LICENCIATURA EN INVESTIGACIÓN CRIMINAL Y FORENSE

"IMPORTANCIA DE LA APLICACIÓN DE LA PRUEBA BLUESTAR FORENSIC EN MUESTRAS DE SANGRE EN INVESTIGACIÓN CRIMINAL Y FORENSE EN GUATEMALA."

TESIS DE GRADO

TRABAJO PRESENTADO AL CONSEJO DE LA FACULTAD DE
CIENCIAS JURÍDICAS Y SOCIALES

POR
NORMA LETICIA CALDERÓN ZELEDÓN

PREVIO A CONFERÍRSELE
EL TÍTULO Y GRADO ACADÉMICO DE LICENCIADA EN INVESTIGACIÓN CRIMINAL Y FORENSE

GUATEMALA DE LA ASUNCIÓN, MARZO DE 2023
CAMPUS CENTRAL "SAN FRANCISCO DE BORJA, S. J." DE LA CIUDAD DE GUATEMALA

AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD RAFAEL LANDÍVAR

RECTOR: P. MIQUEL CORTÉS BOFILL, S. J.

VICERRECTORA ACADÉMICA: DRA. MARTHA ROMELIA PÉREZ CONTRERAS DE CHEN

VICERRECTOR DE INVESTIGACIÓN Y PROYECCIÓN: ING. JOSÉ JUVENTINO GÁLVEZ RUANO

VICERRECTOR DE INTEGRACIÓN UNIVERSITARIA: P. JOSE ANTONIO RUBIO AGUILAR, S. J.

VICERRECTORA ADMINISTRATIVA: MGTR. SILVANA GUISELA ZIMERI VELÁSQUEZ DE CELADA

SECRETARIO GENERAL: DR. LARRY AMILCAR ANDRADE - ABULARACH

AUTORIDADES DE LA FACULTAD DE CIENCIAS JURÍDICAS Y SOCIALES

DECANO: DR. HUGO ROLANDO ESCOBAR MENALDO

VICEDECANA: MGTR. HELENA CAROLINA MACHADO CARBALLO

SECRETARIO: LIC. CHRISTIAN ROBERTO VILLATORO MARTÍNEZ

DIRECTORA DE CARRERA: LIC. REBECA AÍDA GONZALEZ LECHE

NOMBRE DEL ASESOR DE TRABAJO DE GRADUACIÓN

LIC. CARMEN MARÍA ESCRIBÁ SANDOVAL

TERNA QUE PRACTICÓ LA EVALUACIÓN

LIC. BRENDA JEANNETT TELLO LÓPEZ DE GARCÍA

Guatemala 5 de diciembre del 2022

Señores miembros del consejo de Facultad.
Facultad de Ciencias Jurídicas y Sociales
Universidad Rafael Landívar

Estimados señores:

Conforme nombramiento recaído en su servidora para ser asesora de la tesis de grado **"Importancia de la aplicación de la prueba Bluestar Forensic en muestras de sangre en investigación criminal y forense en Guatemala"** de la estudiante Norma Leticia Calderón Zeledón, quien se identifica con carné universitario: 1221818 de la Facultad de Ciencias Jurídicas y Sociales, presento el siguiente informe:

1. Conforme el anteproyecto de investigación autorizado a la estudiante **Norma Leticia Calderón Zeledón**, se procedió a realizar el plan de investigación para cada uno de los capítulos y de manera integral el documento final. Se le reviso cada apartado y se le solicitaron una serie de correcciones para adecuar la investigación a los enfoques jurídicos, propios de la materia, los cuales ya fueron cumplidos.
2. Se completo el documento de acuerdo al protocolo de investigación de la Facultad y en consecuencia se hizo el documento final, un trabajo de grado que cumple con los presupuestos metodológicos exigidos al respecto, cuyo aporte es relevante al abordar una temática de manera novedosa e integral.
3. Es de resaltar que los temas tratados logran que el informe final sea un documento académico, que se incorpora a las investigaciones que como Facultad se están produciendo por lo que:
4. Cumplidos los requisitos metodológicos, como de contenido de trabajo de tesis en mi calidad de asesor, otorgo **DICTAMEN FAVORABLE**, para que la estudiante **Norma Leticia Calderón Zeledón** de la Facultad de Ciencias Jurídicas y Sociales con carné universitario 1221818 proceda a solicitar Revisor de Forma y Fondo de su trabajo de tesis.

Sin otro particular me suscribo,


Licenciada Carmen María Escribá Sandoval
Docente
Código 26185

Guatemala, 27 de febrero del 2023

Señores

Honorables Miembros del Consejo
Facultad de Ciencias Jurídicas y Sociales
Universidad Rafael Landívar

Estimados miembros del consejo:

Por este medio me dirijo a ustedes con el objeto de emitir el dictamen correspondiente en calidad de revisor de forma y fondo de la tesis, titulada "**LA IMPORTANCIA DE LA APLICACIÓN DE LA PRUEBA BLUESTAR FORENSIC EN MUESTRAS DE SANGRE EN INVESTIGACIÓN CRIMINAL Y FORENSE EN GUATEMALA**" de la estudiante **Norma Leticia Calderón Zeledón**, para poder obtener su Título de Licenciada en Investigación Criminal y Forense.

Hago constar que el contenido de la tesis fue desarrollada con estricto apego a lo que indica el Instructivo de Elaboración de Tesis de la Facultad de Ciencias Jurídicas y Sociales, por lo cual me permito emitir **DICTAMEN FAVORABLE** del trabajo de tesis mencionado. Se sugiere APROBACIÓN CON RECONOCIMIENTO, toda vez que en dicha investigación se realizó la parte experimental que corrobora lo indicado en la información bibliográfica consignada en el Instructivo de uso y otros artículos relacionados con el Reactivo Bluestar® Forensic, dicha parte experimental consistió en el análisis de 80 muestras y el tratamiento estadístico de los resultados obtenidos.

Atentamente,



Lcda. Brenda Jeannett Tello López

CODIGO 28478



Universidad
Rafael Landívar

Tradición Jesuita en Guatemala

FACULTAD DE CIENCIAS JURÍDICAS Y SOCIALES
No. 073275-2023

Orden de Impresión

De acuerdo a la aprobación de la Evaluación del Trabajo de Graduación en la variante Tesis de Grado de la estudiante NORMA LETICIA CALDERÓN ZELEDÓN, Carnet 12218-18 en la carrera LICENCIATURA EN INVESTIGACIÓN CRIMINAL Y FORENSE, del Campus Central, que consta en el Acta No. 0796-2023 de fecha 27 de febrero de 2023, se autoriza la impresión digital del trabajo titulado:

"IMPORTANCIA DE LA APLICACIÓN DE LA PRUEBA BLUESTAR FORENSIC EN MUESTRAS DE SANGRE EN INVESTIGACIÓN CRIMINAL Y FORENSE EN GUATEMALA."

Previo a conferírsele el título y grado académico de LICENCIADA EN INVESTIGACIÓN CRIMINAL Y FORENSE.

Dado en la ciudad de Guatemala de la Asunción, a los 9 días del mes de marzo del año 2023.

LIC. CHRISTIAN ROBERTO VILLATORO MARTÍNEZ, SECRETARIO
CIENCIAS JURÍDICAS Y SOCIALES
Universidad Rafael Landívar



Agradecimiento

A Dios: Por haberme dado la fortaleza para seguir adelante en los momentos más difíciles y sabiduría para concluir esta etapa. Por haberme guiado a lo largo de mi vida.

A mis padres: Mi mama por su apoyo y amor incondicional , por enseñarme y guiarme en cada etapa de mi vida para ser una mejor persona , por creer en mí y demostrarme que todo lo que me proponga en la vida lo puedo lograr.

A mi papa por su apoyo incondicional, por toda la ayuda que me ha brindado para poder cumplir mis metas, por su ejemplo de perseverancia, constancia y superación.

A mis hermanos: Ricardo, Víctor y Josu por su cariño, su apoyo incondicional, su comprensión y siempre cuidar de mí.

A mis amigos: Marcela Soria por su apoyo incondicional, sus palabras de aliento y comprensión en los momentos mas difíciles. Mariana Corado por su apoyo incondicional, por haber logrado juntas este triunfo y nuestra amistad. A mi mejor amigo por siempre apoyarme y sus palabras de aliento en los momentos más difíciles.

A mi asesora: Licda. Carmen Escribá por haberme guiado durante todo el proceso de mi trabajo de tesis, por sus consejos, paciencia y su ayuda ya que sin usted esto no hubiera sido posible.

A mi revisora: Licda. Brenda Tello, por la orientación y ayuda que me brindó durante esta etapa y por sus conocimientos que fueron de gran aporte para la investigación.

A mi universidad: Universidad Rafael Landívar, por haberme aceptado ser parte de ella y abrirme las puertas para poder cumplir una de mis metas, por permitirme convertirme en una persona profesional en lo que me apasiona.

Dedicatoria.

A Dios: Por bendecirme cada día, inspirarme y darme fuerza para poder llevar a cabo una de mis metas más importantes.

A mis padres: Norma Zeledón por su apoyo y amor incondicional , por enseñarme y guiarme en cada etapa de mi vida para ser una mejor persona , por creer en mí.

Jose Calderón por su apoyo incondicional, por toda la ayuda que me ha brindado para poder cumplir mis metas, por su ejemplo de perseverancia, constancia y superación.

Gracias a su trabajo y sacrificio he logrado llegar aquí, es un privilegio y orgullo ser su hija.

A mis hermanos: Ricardo, Víctor y Josu por siempre estar presente, acompañándome y por sus palabras de aliento que me han brindado a lo largo de mi vida.

A mis cuñadas: Alicia Garrido y Gabriela Coloma por su apoyo y amor condicional en toda esta etapa.

A mi abuela: Ricarda Monroy (Q.E.D.P) porque a pesar del poco tiempo que Dios me dio la dicha de coincidir, me enseñó grandes valores y enseñanzas, por su ejemplo de una mujer luchadora y perseverante.

A mi familia: Tía Celia Ruth Zeledón por el apoyo y amor incondicional, por siempre cuidarme y sus consejos y sabias enseñanzas. A mis tías, tíos, primos por acompañarme en toda esta etapa y apoyarme.

A mis tías, tíos y primos de Morales Izabal porque a pesar de la distancia me han apoyado y acompañado en esta etapa, por su ejemplo de constancia y superación.

A mi asesora: Licda. Carmen Escribá por haberme guiado durante todo el proceso de mi trabajo de tesis, por sus consejos, paciencia y su ayuda ya que sin usted esto no hubiera sido posible.

A MSc. Maylin Valencia: Por el apoyo, sus consejos y sus palabras de aliento que me brindo durante el proceso de la elaboración de mi tesis.

Responsabilidad: El autor es el único responsable de los contenidos y conclusiones de la presente tesis.

INDICE

Glosario.....	8
Resumen ejecutivo	9
Introducción	10
Capítulo I: Planteamiento del problema	11
1.1 Objetivos	11
1.2 Alcances.....	12
1.3 Limites	12
1.4 Aporte	12
Capitulo II Marco teórico.....	13
2.1 Fluidos biológicos que se encuentran dentro de la escena del crimen.....	13
2.2 Tipos de pruebas presuntivas en sangre.....	16
2.2.1 Conceptos, características y técnica de aplicación.....	16
2.2.2 Luminol	16
2.2.3 Fenolftaleína.....	20
2.2.4 Bencidina.....	21
2.2.5 Verde de Leucomalaquita.....	21
2.2.6 Bluestar® Forensic	22
Capitulo III: Presentación de Resultados.	27
3.1 Metodologia.	27
3.2 Población analizada	29
3.3 Lectura de resultados	32
Capitulo IV: Presentación, Análisis y Discusión de Resultados.....	40
Conclusiones	50
Recomendaciones	50
Referencias.....	51
Anexos	55

Glosario

1. **Especificidad:** Es la capacidad de un método diagnóstico para detectar como negativo o normal aquellas muestras que no poseen el analito en estudio.
2. **Hematrace:** Es una prueba inmunocromatográfica para la detección de sangre humana.
3. **Prueba inmunológica:** Esta prueba mide la cantidad de inmunoglobulinas en la sangre. Las inmunoglobulinas también se conocen como anticuerpos.
4. **Quimioluminiscencia:** "Es el fenómeno por el que, en algunas reacciones químicas, la energía liberada no sólo se emite en forma de calor o de energía química, sino también en forma de luz". La quimioluminiscencia es un fenómeno que acompaña a algunas reacciones químicas y bioquímicas que sucede porque un electrón que estaba en un nivel superior baja a un nivel inferior; al bajar necesita menos energía para poder dar una vuelta alrededor del núcleo por lo que libera la energía sobrante en forma de fotones que al ser libres producen luz. (Esindus,2020)
5. **Sensibilidad:** Es la capacidad de un método diagnóstico para detectar como positivas aquellas muestras que realmente poseen el analito en estudio.

Resumen ejecutivo

La detección o identificación precisa de sangre es de vital importancia para los científicos forenses, en el caso de Guatemala donde los índices de crímenes por armas de fuego, armas blancas u otras herramientas que producen manchas o rastros de sangre, por lo que es importante el uso de reactivos que puedan detectar rastros de sangre humana.

La presente tesis de grado denominada “Importancia de la aplicación de la prueba Bluestar® Forensic en muestras de sangre en investigación criminal y forense en Guatemala, la finalidad del presente estudio la comparación de los resultados obtenidos con la prueba Bluestar® Forensic versus la prueba de Luminol para la detección de sangre humana y animal en sustratos como tela de algodón y alfombra que fueron expuestas a temperatura 25 grados Celsius y a 40 grados Celsius durante una hora, así mismo se agregaron productos químicos, que se utilizan para eliminar la sangre, para observar cómo reaccionaban los reactivos ante éstos.

Ambos reactivos fueron efectivos en la detección de sangre humana y animal, con la diferencia en que Bluestar® Forensic mostró una mayor sensibilidad. En la comparación de los resultados fotográficos Bluestar® Forensic mostró una mayor intensidad de quimioluminiscencia comparado con el Luminol sin la necesidad de oscuridad completa para la visualización de resultados de muestras conocidas positivas evaluadas . Por lo que Bluestar® Forensic es un reactivo para la detección de rastros de sangre presuntivos más sensible que el Luminol.

Introducción

Guatemala es un país con altos índices de muertes por asesinatos por armas de fuego y otras armas punzocortantes que dejan rastros de sangre. Por muchos años la quimioluminiscencia se ha venido utilizando para la detección de rastros de sangre en escenas del crimen. En Guatemala se utilizan distintas pruebas para la detección de diferentes indicios que se muestran dentro de la escena del crimen, el luminol que ha mostrado alta eficacia en la detección de residuos biológicos sin embargo no es la única que tiene un alto valor al momento de análisis, también existe la prueba presuntiva Bluestar® Forensic.

Uno de los productos más populares para la detección de sangre es el Luminol que es efectivo para detectar sangre fresca, limpiada, removida con productos de limpieza, antigua y que son difíciles de ver. También existen productos nuevos e innovadores como lo es Bluestar® Forensic y que es una alternativa o sustituto del luminol. Aunque el Bluestar® Forensic tiene como base el luminol y otros reactivos adicionales funciona de la misma manera que el Luminol, pero sus características lo hacen más conveniente para las investigaciones en escenas del crimen, por ejemplo, no requiere de oscuridad total, mantiene la quimioluminiscencia después de cada aplicación y la mezcla preparada de los reactivos hasta varios días de su preparación.

El objetivo del presente estudio fue determinar si Bluestar® Forensic puede llegar a ser una alternativa en vez del Luminol para utilizar en escenas del crimen. Los resultados muestran que el Bluestar® Forensic posee una mayor sensibilidad para la detección de rastros de sangre en tela de algodón y alfombra a temperatura ambiente y a 40 grados Celsius (durante una hora) en condiciones de laboratorio, comparado con muestras con el mismo tratamiento y revelados con las pruebas de Luminol. Además, la intensidad y duración de la quimioluminiscencia de Bluestar® Forensic supera al Luminol. Así mismo, Luminol necesita una total oscuridad para poder ver la quimioluminiscencia y la duración de la misma es más corta en tiempo que la que produce Bluestar® Forensic.

La finalidad de estas pruebas presuntivas es detectar la presencia de sangre, en este caso se recomiendan el uso de Bluestar® Forensic y Luminol, ambas tienen la facilidad de detectar rastros de sangre humana y animal, con la diferencia que Bluestar® Forensic presenta una mayor sensibilidad e intensidad de la quimioluminiscencia, tiene una mejor resolución y que su mezcla

tiene una vida útil hasta un máximo de 24 horas y lo recomendable es utilizarlas en las primeras 4 horas de preparadas las soluciones. (Patel, G. y Hopwood A. 2013).

Capítulo I: Planteamiento del problema

El luminol ha sido de gran aporte dentro de la investigación criminal sin embargo hay varios estudios científicos que se han realizado en los cuales se ha concluido que esta técnica puede llegar a ser destructiva dañando la muestra que podría localizarse a nivel de traza . Por lo que se pretende realizar una investigación experimental para comprobar si la aplicación de la prueba presuntiva Bluestar® Forensic va a tener una mejor eficacia que el Luminol dentro de la investigación Criminal y forense.

Por lo que surge la siguiente Hipótesis en la investigación - La Prueba Bluestar® Forensic tiene mejor eficacia que el Luminol incluyendo variables como temperatura, tiempo y tratamiento con reactivos aplicados en las muestras de sangre dentro de la investigación Criminal y forense.

Sistema de Variables de la hipótesis:

- Variable independiente: La eficacia de la prueba Bluestar® Forensic
- Variable dependiente: La temperatura y tiempo que se aplican las pruebas en las muestras de sangre.
- Variable interviniente: El manejo y tratamiento de las muestras durante el procedimiento de las pruebas.

1.1 Objetivos

General

Determinar la importancia de los resultados obtenidos con la prueba Bluestar® Forensic en la detección de sangre en la investigación criminal y forense

Específicos:

Experimentar con muestras de sangre con sustancias diluidas la prueba de Bluestar® Forensic y la prueba de luminol.

Comparar el resultado obtenido en muestras de sangre comparado con la prueba Bluestar® Forensic y la prueba del Luminol.

Establecer el aporte de los reactivos Bluestar® Forensic y Luminol por medio de los resultados de las pruebas que se realizaron

1.2 Alcances

El alcance de esta investigación es poder determinar la obtención de mejores resultados de la prueba Bluestar® Forensic a través de un trabajo experimental en , el laboratorio de Química de la Universidad Rafael Landívar en el edificio TEC, el cual se utilizarán distintas muestras de sangre las cuales serán diluidas con diferentes sustancias que se pueden llegar a encontrar dentro de la investigación criminal y Forense y en estas se aplicaran el reactivo de Bluestar® Forensic y el Luminol.

1.3 Limites

Las limitaciones que se pueden encontrar dentro de la investigación pueden ser la falta de bibliografía en español, ya que muchos de los libros que sobre esta prueba se encuentran en otro idioma, por lo que la solución a esta problemática es traducirlos. Otra limitante es la obtención de las pruebas de Luminol y Bluestar® Forensic, la solución a esto es que dentro de los Laboratorios de criminalística en la Universidad Rafael Landívar se encuentran disponibles u otra solución sería adquirirla por otro medio. Así mismo el Bluestar® Forensic y el Luminol son pruebas presuntivas, en las cuales no discriminan el origen de la sangre animal y humano.

1.4 Aporte

El aporte de este trabajo de grado es generar conocimiento sobre la utilidad de la prueba Bluestar® Forensic y así mismo que pueda formar parte del contenido académico en la formación de estudiantes para el manejo de nuevas técnicas que pueden ayudar en el desempeño de su labor profesional al momento de egresar o como un documento de apoyo para las Instituciones correspondientes, ya que este trabajo de grado puede ser de utilidad para los Técnicos de investigación en la Dirección de Investigaciones Criminalísticas del Ministerio Público, ya que son reactivos que se manejan tanto en las escenas del crimen , corroborando teorías de la investigación e historia proporcionada por testigos y a su vez que sea de utilidad como antecedente para futuras investigaciones.

Capítulo II Marco teórico

2.1 Fluidos biológicos que se encuentran dentro de la escena del crimen.

La sangre, la saliva, el sudor, el semen y la orina son los fluidos biológicos más comunes que se encuentran en la escena del crimen. Tal como indica Sniegovski, M., Bortolatto, J y Formolo, F. (2017, como se citó en Dorea 1995)

Uno de los fluidos corporales más conocidos es la sangre que circula por todo el cuerpo, excepto por las uñas, teniendo este líquido, características únicas. El volumen de sangre que circula en el cuerpo de un individuo adulto puede variar, por lo general entre cuatro a cinco litros en las mujeres y cinco a seis litros en los hombres. Su color, cuando en el cuerpo, puede variar de color rojo brillante a oscuro. Existen otros factores que deben tenerse en cuenta, como la superficie donde se encuentra y el tiempo que estuvo allí. (p.7)

Se debe determinar si el líquido que se encuentra es sangre y si esto proviene de un humano y si puede llegar a ser origen de un animal, este estudio se realiza por medio de la serología, a través de esta también se logra analizar el grupo sanguíneo y hasta se puede llegar a identificar al individuo al que pertenece. (Chub, 2018)

Por lo que, dentro del estudio de la hematología forense, se estudian las manchas de sangre en las cuales se analiza la forma, la situación, el tamaño, la trayectoria, el color, aspecto, cantidad.

Se debe de tomar en cuenta el color de las manchas de sangre que se encuentran dentro de la escena del crimen debido a que esto nos puede ayudar a determinar aproximadamente el tiempo de antigüedad.

Las manchas de sangre se pueden encontrar en diferentes superficies como alfombras, madera, azulejos, papel, ropa, vidrio, etc.

Por lo que existen unas clasificaciones de los patrones de manchas de sangre, donde se toma en cuenta las características físicas del tamaño, la forma, la ubicación, distribución, dentro de estos se encuentran las siguientes:

Clasificación de los patrones de manchas de sangre:

Según Chub (2018) las manchas pueden clasificarse de la siguiente manera:

- **Manchas de sangre pasivas:** “Este tipo de manchas son creadas, cuando la fuerza actúa sobre la fuente que produjo esto, es la fuerza de la gravedad exclusivamente.” (p.67)
- **Piscinas o charcos:** “Es un patrón de mancha de sangre que resulta de una fuente de sangre goteando o escurriendo sangre por un periodo sin movimiento que permita formar charcos o lagunas.” (p.68)
- **Patrón de flujo o escurrimiento:** “Un cambio en la forma y dirección de la mancha de sangre debido a la influencia de la gravedad o movimientos de la fuente sangrante u objeto soporte.” (p.68)
- **Coágulos:** “Volúmenes de sangre que una vez que han abandonado el cuerpo, ha transcurrido el tiempo necesario para que la sangre se separe en suero y coágulo.” (p.68)

2.1.1 Manchas de Sangre por transferencia o Contacto:

“Es la producida cuando un objeto con sangre sobre sí o sangrante, entra en contacto con un objeto o superficie que no tenía sangre. Puede en algunos casos permitir identificar el objeto que produjo la impresión.” (Chub,2018, p.69)

2.1.2 Manchas de Sangre Activa, salpicada o proyectada:

Chub (2018) indica que

Una mancha de sangre proyectada ocurre cuando alguna forma de energía ha sido transferida a la fuente de sangre, o cuando la fuente expuesta con sangre es sometida a una acción o fuerza mayor que la fuerza de la gravedad (producido interna o externamente. (p.70)

2.1.3 Sangre Espirada:

Este tipo de patrones son aquellos en los cuales la “Sangre que es soplada o expulsada fuera de la nariz, boca o una herida, como resultado de la presión y/o flujo de aire, las cuales actúan como la fuerza de impulso” (Chub, 2018, p.76)

Del mismo modo indican Sniegovski, et, al. (2017, como se citó en Peschel, 1995)

El análisis del patrón de manchas de sangre permite entonces la reconstrucción con base científica de los acontecimientos durante y después del acto criminal, por lo que respecta a la determinación de los mecanismos que causaron estos patrones y un buen análisis de los rastros puede subvencionar importantes cuestiones para el esclarecimiento de las causas penales. (p.18)

Dentro de la escena se suelen encontrar diferentes tipos de manchas, por ejemplo: Se encuentran manchas de sangre seca, pero muchas son relativamente frescas estas son color rojizas y tiene un aspecto brillante, cuando la mancha se encuentra dentro de un tejido su aspecto es menos brillante y no tan visible, suele tener un aspecto oscuro, así mismo se deben tomar en cuenta los otros tipos de aspectos del color de la sangre ya que depende de la superficie en donde se encuentren. (Chub, 2018)

Debido a esto es importante que las entidades dedicadas a la investigación de crímenes y el análisis de muestras deben utilizar los instrumentos de mayor efectividad, eficacia y sobre todo que preserve el valor de la prueba, dentro de estos instrumentos en la actualidad se utilizan distintos tipos de pruebas presuntivas y las confirmatorias.

En Guatemala se utiliza el Manual de Normas y procedimientos para el Procesamiento de la Escena del Crimen, donde se indica el procedimiento para la recolección de manchas de sangre. (Ministerio Público, 2010)

- Se debe de tomar la muestra de sangre de las diferentes armas u objetos que hayan utilizado, en un mínimo de cuatro hisopos, embalándolos por separado para evitar transferencia y contaminación.
- Siguiendo esto se debe de realizar una prueba presuntiva para determinar si la mancha corresponde a sangre.
- Asimismo; se realiza el hisopado con agua destilada o raspado embalándolo la muestra de la forma adecuada para él envío al laboratorio. El objetivo de las pruebas presuntivas es detectar la presencia de sangre, están son pruebas fáciles y prácticas de realizar, las cuales son fáciles de transportar para llevar a la escena del crimen.

2.2 Tipos de pruebas presuntivas en sangre.

2.2.1 Conceptos, características y técnica de aplicación

Existen varias pruebas presuntivas que suelen ser utilizadas para la detección de sangre, ya que como sabemos la hemoglobina tiene actividad enzimática de tipo peroxidasa (esta propiedad usualmente se utiliza en los exámenes para poder identificar la presencia de sangre.) (Ayón, 2019)

Guatemala es un país en el que diariamente se presentan delitos en donde se incluye violencia como el abuso sexual, asesinato, secuestros, entre otros.

En Guatemala se utilizan distintas pruebas para la detección de diferentes indicios que se muestran dentro de la escena del crimen, el luminol que ha mostrado alta eficacia en la detección de residuos biológicos sin embargo no es la única que tiene un alto valor al momento de análisis, también existe la prueba presuntiva Bluestar® Forensic

La Química Forense es una rama en el campo de las ciencias forenses, se encarga del estudio de las huellas, indicios o rastros, que se encuentran en la escena del crimen dejadas por el autor o la víctima lo que sirve para establecer la relación del hecho cometido. (Vallejo, 2012)

Por lo que la Química Forense tiene una diversidad de técnicas cuantitativas asimismo cualitativas, con la finalidad determinar analíticamente naturaleza u origen de los indicios hallados en las escenas del crimen para coadyuvar en la resolución del hecho delictivo, entre estas se encuentran las siguientes:

2.2.2 Luminol

❖ Gómez (2020, como se citó en Albrech, 1928) indica que

El Luminol es un compuesto químico, cuya fórmula es 5-amino-2,3-dihidroftalazina-1,4-diona, que fue descubierto a finales del siglo XIX, pero para el que, en aquel entonces, no se encontró un uso por parte de los químicos de la época. Años más tarde, fue un químico alemán, quien, al 17 agregar peróxido de hidrógeno al Luminol, descubrió que dicha

sustancia emitía luz, al añadirle una pequeña muestra de metal como el cobre o el hierro. (p.50)

- ❖ Alrededor de diez años más tarde en Alemania, el profesor Walter Specht de la Universidad de Medicina Legal y Criminalística de la ciudad de Jena, comenzó a utilizar el Luminol para detectar sangre en diversas superficies, luego de haber descubierto que este reactivo era muy eficaz para la identificación de sangre en cualquier superficie, aunque haya sido limpiada. (Cedrón, 2011).
- ❖ Gómez (2020, como se citó en Albrech, 1928) comenta que “A partir de 1951, el Luminol es usado en la investigación de distintos casos, de forma habitual y como una herramienta eficaz para la solución de los mismos.” (p.50)
- ❖ En 1958 los investigadores Lytle y Hedgcock decidieron realizar un estudio sobre los efectos de Luminol en soluciones que contienen álcali, el estudio concluyó en que esta prueba no afectaba la actividad enzimática de los eritrocitos, pero no lograron comprobar como reaccionaba dentro de la determinación del grupo ABO y en el análisis genético.

Reacción de la sangre con el Luminol: El Luminol es un compuesto quimioluminiscente que al momento que reacciona con las peroxidasas provoca la producción de energía fría en forma de luz de color azul.

La reacción del luminol con la sangre es debido a que cuando este reacciona con el luminol se oxida, se necesita un medio alcalino y un catalizador por lo que eso produce la quimioluminiscencia.

Cuando se aplica el Luminol sobre una superficie, éste reacciona con cualquier tipo de sangre produciendo una luz azulada. Esta prueba es especialmente sensible a la hemoglobina, la proteína que da el color rojo a la sangre.

Siempre se debe de utilizar mascarilla al momento de aplicar la prueba ya que no debe ser inhalado.

Para realizar esta prueba se utiliza una solución de Luminol la cual se prepara en un Erlenmeyer de 250 ml, donde se coloca 240 ml de agua destilada a la que se le agrega un vial de perborato de sodio, se cubre el Erlenmeyer se mezcla y agita durante unos 15 segundos, luego se agrega el vial de Luminol y carbonato de sodio, se cubre el Erlenmeyer

y se agita nuevamente. Se debe permitir que las partículas no disueltas se precipiten al fondo, luego se coloca la solución en un rociador, se recomienda usar la solución inmediatamente y no más allá de 8 horas en la superficie que se quiere investigar.

Si hay sangre en una superficie, ésta reaccionará con el Luminol produciendo una luz azulada. Este tipo de prueba es muy sensible y puede detectar sangre incluso en superficies que han sido limpiadas o en las que no hay rastros de sangre visibles a simple vista.

El Luminol también logra revelar dentro de la escena del crimen huellas de zapatos que hayan tenido contacto con sangre, el Luminol es de gran relevancia ya que nos puede aportar información esencial, ya sea el patrón de la huella de calzado, herramienta u objeto que dejó la sangre y esto nos puede ayudar a tener referencia del punto donde se inició, así mismo el arma que se utilizó para llevar a cabo la comisión del delito. (Ayón, 2019).

El Luminol puede generar resultados falsos positivos cuando entra en contacto de estos elementos:

- Peroxidasa Vegetal de plantas, de algunas frutas: manzana, fresas, rábanos y papas.
- Oxidantes químicas o agentes oxidantes.
- Algunos metales como: cobre y níquel
- Productos de limpieza.

Figura 1.

Ventajas y desventajas del Luminol

Ventajas	Desventajas
• Reacciona a la sangre sin mezclar otro agente que sea oxidante. • Detecta pequeñas cantidades de sangre que pueden tener antigüedad, inclusive de varios años. • Se puede fotografiar perfectamente. • El resultado de detección permanece durante 30 segundos, por lo que evita que las sustancias brillen durante largos períodos.	• El luminol puede reaccionar a la orina, Blanqueadores, sangre de animal por lo que brilla cuando detecta estas sustancias. • El luminol evita que se puedan realizar más pruebas debido a que ya se aplicó este sobre la sustancia. • El luminol puede destruir otras pruebas en la escena del crimen. • Tiene una fecha de caducidad

Nota: Tomado de Bermúdez (2011)

El Luminol se ha utilizado por varias décadas ya que ha sido de gran aporte dentro de las investigaciones por ser empleado para visualizar las pequeñas manchas de sangre, que no son observables a simple vista, además esta prueba es fácil de adquirir al igual que la preparación es rápida.

Pero también se tiene que tomar en cuenta esta técnica puede llegar a ser destructiva y dañar la muestra que se va a analizar, por lo que siempre se tiene que tomar precauciones como aplicar esta prueba después de haber tomado ciertas muestras para el análisis como el ADN.

Es necesario utilizar otro tipo de prueba que realmente confirme la presencia de la sangre, ya que los productos químicos o las peroxidases vegetales de plantas pueden dar falsos positivos.

2.2.3 Fenolftaleína

Sierra (2011) relata los antecedentes de la prueba presuntiva,

Louis-Jacques Thenard (1777-1857) y Christian Freidrich Schonbein (1799- 1868) realizaron los primeros pasos científicos hacia un ensayo confiable que permitiera detectar la presencia de sangre. Thenard descubrió el peróxido de hidrógeno en 1818, y Schonbein describió la primera prueba de orientación en 1863. Esta prueba se basaba en el hecho de que la peroxidasa, al contacto con la hemoglobina, generaba la oxidación del peróxido de hidrógeno. La mezcla del peróxido de hidrógeno y la hemoglobina resultaba en un burbujeo o reacción de efervescencia debido al desprendimiento de burbujas de oxígeno. A principios del siglo XX, el Dr. Joseph H. Kastle (1864-1916) desarrolló una prueba cualitativa para hemoglobina mediante el uso de la fenolftaleína como indicador de color. Un poco después, el Dr. Julius Lothar Meyer (1830-1895) mejoró dicha prueba después de muchos estudios, es por eso por lo que dicha pericia tomó el nombre de prueba de Kastle-Meyer. (p. 31)

La sensibilidad de la prueba de Kastle Meyer es de aproximadamente una parte en diez mil (1:10.000). Está descrito que sólo la hemoglobina genera un resultado positivo al aplicar este ensayo evidenciando un color fucsia-rosado a los pocos segundos de aplicarse el peróxido de hidrógeno. (Castelló, et. al, 2002)

Los falsos positivos podrían ocurrir en presencia de elementos químicos oxidantes y por acción de las peroxidases de origen vegetal; conviene destacar que estos falsos positivos suceden sólo después de aplicar la fenolftaleína y antes de agregar el peróxido de hidrógeno. (Castelló, et. al, 2002)

Utilización de la prueba Kastle Meyer.

1. Humedecer un hisopo con solución salina, frotar la muestra problema y pasarlo a un tubo de ensaye con 2 ml de la misma solución.
2. Calentar un minuto a 100 °C.
3. Añadir unas gotas del reactivo de Fenolftaleína , esperar unos segundos y agregar agua oxigenada.
4. En caso positivo se obtendrá una coloración rosa brillante. (Aparicio, 2017)

2.2.4 Bencidina

Esta técnica tiene una sensibilidad de 1:300,000 a 500,000.

Si la reacción es positiva, como toda técnica de orientación o presuntiva ,requiere del empleo de reacciones de análisis confirmatorios ya que se pueden obtener falsas reacciones positivas con otras sustancias que tengan actividad semejante a las peroxidasas o bien con otros materiales oxidantes. (Ayón, 2019)

Preparación del reactivo

- a) Solución de Bencidina 0.25 g. de bencidina se disuelven en 175 ml de etanol y se añaden 5 a 10 gotas de ácido acético glacial. Se guarda en un frasco gotero ámbar, en refrigeración
- b) H₂O₂ al 3%; también en un frasco gotero ámbar. (Aparicio, 2017)

Procedimiento:

- a) Humedecer un hisopo con agua destilada y frotarlo sobre la mancha problema.
- b) Añadir al hisopo 1 ó 2 gotas de solución bencidina, después de unos momentos de observar que no genere coloración con ésta.
- c) Poner la misma cantidad de agua sobre el hisopo.
- d) En caso positivo aparece rápidamente una coloración azul. (Aparicio, 2017)

2.2.5 Verde de Leucomalaquita.

La estructura química de esta sustancia es similar a la de la fenolftaleína. El prefijo leuco se refiere a la forma reducida incolora; la forma leuco puede ser preparada por reducción de la malaquita verde. Como en el caso de la fenolftaleína, la forma leuco puede ser oxidada por la acción de las peroxidasas para dar la forma oxidada de color verde.

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

Preparación del reactivo

- a) Se prepara una mezcla sólida que contenga: 0.32 g de perborato de sodio y 0.10 g. De malaquita verde; se mezclan perfectamente y se guardan en frasco ámbar. Esta mezcla dura un año sin perder su estabilidad.
- b) El solvente se prepara diluyendo 6.6 ml de ácido acético glacial en 3.3 ml de agua destilada.
- c) Preparar el reactivo de trabajo, inmediatamente antes de usarlo, disolviendo la mezcla sólida
 - a. en la solución

Nota: si en el reactivo recién preparado llegará a observarse la más leve coloración verde, no deberá usarse. (Aparicio, 2017)

Procedimiento

- a. La mancha sospechosa, se levanta con un hisopo humedecido en agua destilada
- b. Se le agregan unas gotas del reactivo Verde Leucomalaquita recientemente preparado.
- c. En caso positivo se observará una coloración verde. (Aparicio, 2017)

2.2.6 Bluestar® Forensic

En el año 2000, Jean-Marc Lefebvre-Despeaux, presidente de BLUESTAR, encargó al Dr. Loic Blum, profesor de bioquímica de la Universidad Claude Bernard Lyon y director del laboratorio de ingeniería enzimática y biomolecular (EMB2-UMR 5013 CNRS-UCBL) que encontrara una nueva fórmula a base de luminol que eliminara los numerosos inconvenientes de las otras fórmulas. Blum descubrió así un producto nuevo, una fórmula que posteriormente fue llamada Bluestar® Forensic. (Bluestar® Forensic, sf)

Esta prueba está diseñada no solo para detectar pequeñas cantidades de sangre, sino que también rastros de sangre muy antiguos por lo que esto también es de gran aporte para la arqueología Forense.

Esta prueba se ha utilizado en varios casos en los cuales ha realizado aportes importantes para las investigaciones, por ejemplo: El asesinato de la abogada Anat Plinner en Ramat Hasharon en 2006, se logró resolver finalmente en junio de 2008, tras ser detenido un adolescente simplemente por conducir una motocicleta robada. Fue interrogado, entrego una muestra de ADN y fue liberado.

Al procesar la muestra, la policía descubrió que coincidía con el ADN que creían que pertenecía al autor del crimen, que extrajeron de un cuchillo y unos guantes dejados en el lugar del asesinato los cuales se les aplicó el reactivo Bluestar® Forensic. La utilización de ésta permitió la resolución del hecho delictivo anteriormente mencionado. (Singer, 2008)

Al igual en el caso de Yexeira en el año 2011 en el cual también se logró identificar responsable ya que esta prueba fue de gran utilidad todas las pruebas específicamente las de sangre, las cuales fueron detectadas por esta prueba, se logró resolver este crimen en el 2014.

Figura 2

Características de la prueba Bluestar® Forensic.

Características
1. La sensibilidad de Bluestar® Forensic, permite visualizar a simple vista, manchas de sangre hasta diluciones de: 10,000, así como pequeñas manchas o gotas que hayan sido lavados con o sin blanqueador.
2. Bluestar® tiene luminiscencia más fuerte y duradera, la cual no se necesita que esté totalmente oscuro para que pueda ser visible, por lo que la fotografía es de buena calidad.
3. Permite discriminar entre sangre real y un falso positivo ya que la luminiscencia presenta mayor color, intensidad y duración con el empleo de este reactivo.
4. No desnaturaliza el ADN.
5. Bluestar® tiene la ventaja que puede detectar manchas de sangre que sean frescas o que lleven bastante tiempo, estén alteradas, puras o diluidas, por lo que suelen ser de gran ayuda en los casos que llevan muchísimo tiempo.

Nota: Tomado de Seidden (s,f)

Por lo que la prueba Bluestar[®] Forensic, permite los análisis subsecuentes de Serología forense y Genética forense.

Utilización de la prueba Bluestar[®] Forensic.

1. El técnico debe vestir ropa de protección para prevenir la contaminación.
 - a. Gafas protectoras.
 - b. Guantes
 - c. Bata.
 - d. Mascarilla.
2. Preparar la solución con el Kit Bluestar[®] Forensic.
3. Unos minutos después, el técnico debe hacer pruebas de verificación con una muestra de sangre utilizada como control positivo. También se debe verificar que el reactivo no está contaminado con el empleo de un control negativo (sin sangre), para corroborar que no reacciona. Luego estará listo para analizar manchas de sangre lavadas o eliminadas.
4. Oscurecer el área en donde se van a realizar las pruebas con Bluestar[®] Forensic
5. Rociar sobre el área sospechosa con un atomizador. El técnico rocía la mezcla desde una distancia de por lo menos 50 cm. Una luminiscencia azulada indica un resultado positivo. Esta luminiscencia comienza a desvanecerse después de un minuto y se puede volver a obtener con una nueva rociada.
6. El técnico debe realizar el mismo procedimiento sobre un área sin manchas de la misma superficie para que sirva como control negativo.
7. Las pruebas de detección se deben realizar directamente en el lugar, utilizando Bluestar[®] Forensic.

El análisis genético se debe efectuar en el laboratorio. Recoja muestras de los materiales que presentaron luminiscencia para análisis de determinación del origen de sangre humana con Hematrace (prueba confirmatoria para origen humano) si hubiera muestra en cantidad suficiente y posteriormente el análisis individualizante de ADN.

El reactivo Bluestar® Forensic, está adaptado para poder identificar en diferentes objetos u áreas la presencia de sangre, así mismo se logra trabajar en manchas de sangre fresca o en manchas antiguas, alteradas, diluidas o puras.

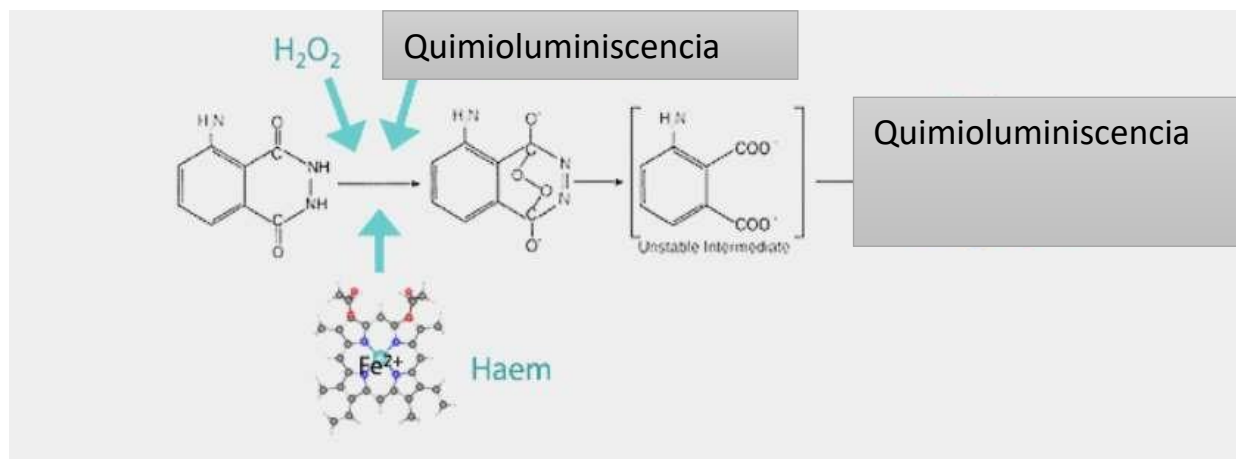
La prueba tiene un pH de 11.54 esto indica que no destruye el ADN y permite análisis posteriores.

Bluestar® Forensic es un agente para la visualización o revelado de sangre cuando ésta no es perceptible a simple vista, basado en la molécula de Luminol (Nombre químico 5-amino-2,3-dihidroftalazina-1,4-diona), una molécula que es bien conocida entre los criminalistas forenses.

La formulación de Bluestar® Forensic ha hecho posible eliminar inconvenientes asociados con otros agentes reactivos basados en luminol. (Bluestar® Forensic, s, f).

Figura 3

Formula del luminol



Nota: Muestra la formula del luminol. Fuente: Bluestar® Forensic (s, f).

Se tiene que tomar en cuenta que estas pruebas son presuntivas por lo que, al momento de tomar muestras de estas, deben de ser enviadas a los laboratorios forenses para que se les realice el respectivo estudio. Donde se les realizan las pruebas confirmatorias, para poder extraer el ADN y obtener la individualización. (Oficina de naciones unidas contra la droga y el delito [UNODC], 2009)

Dentro de estas pruebas se encuentran el uso del microscopio, formación de cristales, pruebas inmunológicas, la prueba Takayama. Por lo que estas pruebas Quimioluminiscencia tanto confirmatorias como presuntivas son de gran ayuda dentro del estudio de las manchas de sangre en los casos de investigaciones.

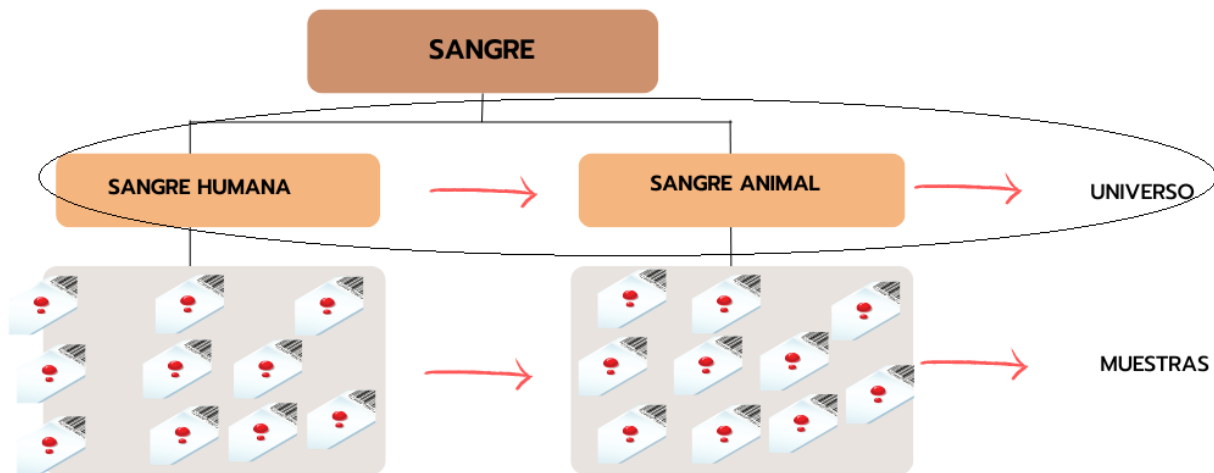
Capítulo III: Presentación de Resultados.

3.1 Metodología.

Los reactivos que se utilizaron fueron los productos comerciales denominados Bluestar[®] Forensic y Luminol para detectar rastros de sangre humana y animal (ganado vacuno obtenido por mi persona) a temperatura ambiente (25°C.) y a 40°C, el estudio se realizó en el laboratorio de Química de la Facultad de Ciencias Jurídicas y Sociales de la Universidad Rafael Landívar en el edificio TEC.

Figura 4

Sangre



Nota: Metodología que se empleó para para el trabajo. Fuente elaboración propia



Materiales

Se utilizó:

- 1) Tela de algodón
- 2) Tela de alfombra
- 3) Gradillas para tubos de ensayo
- 4) Pipetas
- 5) Guantes y
- 6) Tapabocas.
- 7) Químicos.
 - a. Hipoclorito de sodio (NaClO), grado industrial.
 - b. Peróxido de hidrogeno (H_2O_2), grado comercial.
 - c. Ácido acético ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$), grado comercial.
 - d. Hidróxido de sodio (NaOH), grado reactivo.
 - e. Agua destilada estéril (H_2O)
- 8) Muestras de sangre humana y sangre de ganado vacuno obtención propia.

Equipo utilizado

Horno, mesas de trabajo, cámara compacta Sony HX400V y cuarto oscuro.

Reactivos utilizados

- Bluestar[®] Forensic.
- Luminol.
- Hidróxido de sodio (NaOH) 99% grado reactivo.
- Hipoclorito de sodio (NaClO) 4.725% grado industrial.
- Peróxido de hidrógeno (H_2O_2) 3% grado comercial .
- Ácido acético ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$), 5% grado comercial ,
- Agua destilada estéril (H_2O).

Figura 5

Manchas de sangre



Nota: Tratamiento utilizado en las manchas de sangre. Fuente elaboración propia

3.2 Población analizada

Se utilizaron 80 muestras para el estudio donde la confirmación de resultados de energía lumínica se compararon los resultados positivos y negativos por la responsable de la investigación y mi asesora, consignando los resultados en una tabla Excel con las muestras previamente codificadas, comparando posteriormente resultados de los diferentes tratamientos.

Tratamientos

Se cortaron 40 pedazos de tela de algodón de 10 cm² cada uno y 40 pedazos de tela de alfombra de 10 cm² cada uno, los tratamientos realizados fueron los siguientes:

1. A ocho cuadros de tela de algodón se les aplicó sangre animal, aplicando Bluestar[®] Forensic a cuatro pedazos y el reactivo Luminol a cuatro pedazos.

2. A dos cuadros de tela de algodón se les aplicó sangre animal más 1 ml de NaClO diluido 1/10 , a uno se le aplico Bluestar® Forensic y al otro el reactivo Luminol.
3. A dos cuadros de tela de algodón se les aplicó sangre animal más 1 ml de C₂H₄O₂ diluido 1/10 a uno se le aplico Bluestar® Forensic y al otro el reactivo Luminol.
4. A dos cuadros de tela de algodón se les aplicó sangre animal más 1 ml de NaOH diluido 1/10, a uno se le aplico Bluestar® Forensic y al otro el reactivo Luminol.
5. A dos cuadros de tela de algodón se les aplicó sangre animal más 1 ml de H₂O₂ diluido 1/10, a uno se le aplico Bluestar® Forensic y al otro el reactivo Luminol.
6. A dos cuadros de tela de algodón con sangre animal se colocaron a 40°C en un horno por 1 hora luego se les aplicó 1 ml de NaClO diluido 1/10, a uno se le aplicó Bluestar® Forensic y al otro el reactivo Luminol.
7. A dos cuadros de tela de algodón con sangre animal se colocaron a 40°C en un horno por 1 hora luego se les aplicó 1 ml de C₂H₄O₂ diluido 1/10, a uno se le aplico Bluestar® Forensic y al otro el reactivo Luminol.
8. A dos cuadros de tela de algodón con sangre animal se colocaron a 40°C en un horno por 1 hora luego se les aplicó 1 ml de NaOH diluido 1/10, a uno se le aplico Bluestar® Forensic y al otro el reactivo Luminol.
9. A dos cuadros de tela de algodón con sangre animal se colocaron a 40°C en un horno por 1 hora luego se les aplicó 1 ml de H₂O₂ diluido 1/10, a uno se le aplicó Bluestar® Forensic y al otro el reactivo Luminol.
10. A dos cuadros de alfombra con sangre animal se colocaron a 40°C en un horno durante 1 hora luego se le aplicó 1 ml de NaClO diluido 1/10, a uno se le aplicó Bluestar® Forensic y al otro el reactivo Luminol.
11. A dos cuadros de alfombra con sangre animal se colocaron a 40°C en un horno durante 1 hora luego se le aplicó 1 ml de C₂H₄O₂ diluido 1/10, a uno se le aplicó Bluestar® Forensic y al otro el reactivo Luminol.
12. A dos cuadros de alfombra con sangre animal se colocaron a 40°C en un horno durante 1 hora luego se le aplicó 1 ml de NaOH diluido 1/10, a uno se le aplicó Bluestar® Forensic y al otro el reactivo Luminol.

13. A dos cuadros de alfombra con sangre animal se colocaron a 40°C en un horno durante 1 hora luego se le aplicó 1 ml de H₂O₂ diluido 1/10, a uno se le aplicó Bluestar® Forensic y al otro el reactivo Luminol.
14. A catorce (14) cuadros de tela de algodón se les aplicó sangre humana, a siete (7) se les aplicó Bluestar® Forensic y a los otros (7) el reactivo Luminol.
15. A dos cuadros de tela de algodón se les aplicó sangre humana más 1 ml de NaClO diluido 1/10, a uno se le aplicó Bluestar® Forensic y al otro el reactivo Luminol.
16. A dos cuadros de tela de algodón se les aplicó sangre humana más 1 ml de C₂H₄O₂ diluido 1/10, a uno se le aplicó Bluestar® Forensic y al otro el reactivo Luminol.
17. A dos cuadros de tela de algodón se les aplicó sangre humana más 1 ml de NaOH diluido 1/10, a uno se le aplicó Bluestar® Forensic y al otro el reactivo Luminol.
18. A dos cuadros de tela de algodón se les aplicó sangre humana más 1 ml de H₂O₂ diluido 1/10, a uno se le aplicó Bluestar® Forensic y al otro el reactivo Luminol.
19. A dos cuadros de tela de algodón se les aplicó sangre humana más 1 ml de NaClO diluido 1/10, a uno se le aplicó Bluestar® Forensic y al otro el reactivo Luminol.
20. A dos cuadros de tela de algodón con sangre humana se colocaron a 40°C en un horno durante 1 hora luego se le aplicó 1 ml de C₂H₄O₂ diluido 1/10, a uno se le aplicó Bluestar® Forensic y al otro el reactivo Luminol.
21. A dos cuadros de tela de algodón con sangre humana se colocaron a 40°C en un horno durante 1 hora luego se le aplicó 1 ml de NaClO diluido 1/10, a uno se le aplicó Bluestar® Forensic y al otro el reactivo Luminol.
22. A dos cuadros de tela de algodón con sangre humana se colocaron a 40°C en un horno durante 1 hora luego se le aplicó 1 ml de NaOH diluido 1/10, a uno se le aplicó Bluestar® Forensic y al otro el reactivo Luminol.
23. A dos cuadros de tela de algodón con sangre humana se colocaron a 40°C en un horno durante 1 hora luego se le aplicó 1 ml de H₂O₂ diluido 1/10, a uno se le aplicó Bluestar® Forensic y al otro el reactivo Luminol.
24. A dos cuadros de tela de algodón más NaClO, a uno se le aplicó Bluestar® Forensic y al otro el reactivo Luminol.
25. A dos cuadros de tela de algodón más C₂H₄O₂, a uno se le aplicó Bluestar® Forensic y al otro el reactivo Luminol.

26. A dos cuadros de tela de algodón más H_2O_2 , a uno se la aplicó Bluestar® Forensic y al otro el reactivo Luminol.
27. A dos cuadros de tela de algodón más NaOH diluido 1/10, a uno se la aplicó Bluestar® Forensic y al otro el reactivo Luminol.
28. A dos cuadros de tela de algodón más agua destilada estéril, a uno se la aplicó Bluestar® Forensic y al otro el reactivo Luminol.

Procedimiento en el Laboratorio.

Para el estudio de las 80 muestras, se prepararon las muestras de tela de algodón y de alfombra, identificando a cada uno acorde a cada tratamiento que se les aplicó y posteriormente con una cámara profesional documentación fotográfica en un cuarto oscuro para poder visualizar la quimioluminiscencia obtenida en cada muestra con el tratamiento de diferentes condiciones.

3.3 Lectura de resultados

En la presente investigación los resultados positivos corresponden a las muestras que presentaron quimioluminiscencia de color azul al tratamiento de Bluestar® Forensic y de Luminol y como resultado negativo la ausencia de quimioluminiscencia de color azul en las muestras tanto de tela de algodón como de alfombra.

El análisis de **tipo cualitativo** y valores numéricos de especificidad, sensibilidad, valor predictivo positivo y negativo, índice de concordancia, se determinó según la matriz de confusión utilizando el protocolo de análisis de datos estadísticos. Vizcaino-Salazar (2002), Griner (1981) y Sierra-Arango (2003).

Se elaboro una tabla binaria o de 2x2, a partir de esta se pueden obtener las diversas combinaciones de resultados al utilizar el Bluestar® Forensic y Luminol en tela de algodón y alfombra utilizando sangre humana y animal, lo cual se puede observar en la tabla 1.

Tabla 1.

Tabla binaria y resultados probables de la prueba de evaluación de Bluestar® Forensic y Luminol.

	Quimioluminiscencia Presente	Quimioluminiscencia ausente
Prueba positiva	Verdaderos positivos (VP) A	Falsos positivos (FP) b
Prueba negativa	Falsos negativos (FN) C	Verdaderos negativos (VN) d

Nota: Resultados que se pueden obtener en la evaluación de la prueba de Bluestar® Forensic y Luminol. Fuente: Elaboración propia

Tabla 2

Muestra el universo de las muestras utilizadas para este estudio y los tratamientos utilizados.

Muestra	Origen	Numero de muestra	Sustrato	Cantidad
Sangre	Animal	1 al 8	Tela de algodón	8
		9 al 10	Tela de algodón más NaClO	2
		11 al 12	Tela de algodón más C ₂ H ₄ O ₂ .	2
		13 al 14	Tela de algodón más NaOH.	2
		15 al 16	Tela de algodón más H ₂ O ₂ .	2
		17 al 18	Tela de algodón más NaClO a T ^O 40°C.	2

	Animal	19 al 20	Tela de algodón más $C_2H_4O_2$ a T^0 40°C.	2
		21 al 22	Tela de algodón más NaOH a T^0 40°C.	2
		23 al 24	Tela de algodón más H_2O_2 a T^0 40°C.	2
		25 al 26	Alfombra más NaClO a T^0 40°C.	2
		27 al 28	Alfombra más $C_2H_4O_2$ a T^0 40°C.	2
		29 al 30	Alfombra más NaOH a T^0 40°C.	2
		31 al 32	Alfombra más H_2O_2 a T^0 40°C.	2
Sangre	Humana	33 al 46	Tela de algodón	14
		47 al 48	Tela de algodón más NaClO	2
		49 al 50	Tela de algodón más $C_2H_4O_2$.	2
		51 al 52	Tela de algodón más NaOH.	2
		53 al 54	Tela de algodón más H_2O_2 .	2
		55 al 56	Tela de algodón más NaClO a T^0 40°C.	2
		57 al 58	Tela de algodón más $C_2H_4O_2$ a T^0 40°C	2
Sangre	Humana	59 al 60	Tela de algodón más NaOH a T^0 40°C.	2
		61 al 62	Tela de algodón más H_2O_2 a T^0 40°C.	2
		63 al 64	Alfombra más NaClO a T^0 40°C.	2
		65 al 66	Alfombra más $C_2H_4O_2$ a T^0 40°C.	2
		67 al 68	Alfombra más NaOH a T^0 40°C.	2
		69 al 70	Alfombra más H_2O_2 a T^0 40°C.	2

Productos y reactivos químicos.	Hipoclorito de sodio	71 al 72	Tela de algodón	2
	Ácido acético	73 al 74	Tela de algodón	2
	Hidróxido de sodio	75 al 76	Tela de algodón	2
	Peróxido de hidrógeno	77 al 78	Tela de algodón	2
	Agua destilada	79 al 80	Tela de algodón	2
Total				80

Nota: Fuente: Elaboración propia.

Para el cálculo de la sensibilidad, la especificidad, el valor predictivo positivo y el valor predictivo negativo, se realizaron en base a las siguientes definiciones.

- Verdaderos Positivos: Muestras con sangre que dan un resultado positivo.
- Verdaderos Negativos: Muestras sin sangre que dan un resultado negativo.
- Falsos Positivos: Muestras sin sangre que dan un resultado positivo.
- Falsos Negativos: Muestras con sangre que dan un resultado negativo.

a) Sensibilidad: Proporción de muestras obtenidas como positivas identificadas correctamente por las muestras bajo estudio.

$$S = \frac{\text{verdadero positivos (a)}}{\text{total de casos positivos (a + c)}} \times 100$$

b) Especificidad: Proporción de muestras obtenidas como negativas identificadas correctamente por las muestras bajo estudio.

$$E = \frac{\text{verdaderos negativos (d)}}{\text{total de casos negativos (d + b)}} \times 100$$

- c) Valor Predictivo Positivo: Representa la probabilidad de que una muestra o alguien con un resultado positivo en las muestras bajo estudio, tenga la característica de interés.

$$VPP = \frac{\text{verdadero positivo (a)}}{\text{verdadero positivo + falso postivo (a + b)}} \times 100$$

- d) Valor Predictivo Negativo: Representa la probabilidad de que una muestra o alguien con un resultado negativo en las muestras bajo estudio, no tenga la característica de interés.

$$VPN = \frac{\text{verdaderos negativos (d)}}{\text{verdaderos negativos + falsos negativos (d + c)}} \times 100$$

- e) Exactitud: Representa la exactitud de la muestra bajo estudio.

$$E = \frac{\text{Verdadero positivo + Verdadero Negativo}}{\text{Número de muestras}} \times 100$$

Tabla 3.

Tabla de la exactitud.

	Resultado positivo	Resultado negativo.		
Prueba Positiva	a	b	a+b	VPP
Prueba negativa	c	d	c+d	VPN
	a+c	b+d		
	Sensibilidad.	Especificidad.		

Nota: Muestra cómo se calcula la exactitud.

Estadística de Kappa de Cohen

Esta se utiliza para medir la concordancia que se define como el grado en que dos o más observadores, métodos, técnicas y observaciones están de acuerdo sobre el mismo fenómeno observado.

La ecuación para el Kappa de Cohen es la siguiente:

$$K = \frac{(P_o - P_e)}{(1 - P_e)}$$

P_o : Concordancia relativa observada entre los evaluadores.

P_e : Probabilidad hipotética de acuerdo al azar.

A través de este estadístico se puede explicar la situación en la cual los evaluadores concuerdan o no en las observaciones.

Tabla 4

Muestra la interpretación del estadístico de Cohen.

Kappa Cohen	Interpretación
0	No existe concordancia.
0.10 – 0.20	Débil concordancia.
0.21 – 0.40	Baja concordancia.
0.41 – 0.60	Moderada concordancia.
0.61 – 0.80	Sustancial concordancia.
0.81 – 0.99	Excelente concordancia
1	Concordancia total.

Nota: Interpretación del estadístico Kappa de Cohen.

El valor de Kappa de Cohen siempre cambia entre 0 y 1, donde 0 significa que no hay un acuerdo entre los dos evaluadores y el 1 significa que hubo un acuerdo perfecto entre los dos evaluadores.

Tabla 5

Resultados de calificación

Observador 1	Observador 2		
		Si	No
	Sí	(N°)	(N°)
	No	(N°)	(N°)

Nota: Se construye una tabla de 2X2 que muestra la manera en que se pueden dar los resultados de los observadores. Fuente: Elaboración propia

Cálculo de la concordancia relativa de P_o

Para calcular la Concordancia relativa (P_o) entre los observadores, primero se debe calcular el acuerdo relativo entre los observadores, que es la proporción de calificaciones totales en las que observadores dijeron <Sí> o ambos dijeron <No>

$$P_o = \frac{(\text{ambos dijeron Si} + \text{ambos dijeron No})}{\text{Calificaciones totales.}}$$

Cálculo de la probabilidad hipotética de acuerdo con al azar (P_e) entre los observadores

Se debe calcular la probabilidad en la que los observadores pudieron estar de acuerdo por casualidad.

Ecuación para su cálculo:

$$P(\text{Sí}) = \left(\frac{\text{N}^\circ \text{total que el observador 1 dijo que Sí}}{\text{N}^\circ \text{total de respuestas}} \right) * \left(\frac{\text{N}^\circ \text{total que el observador 2 dijo que Sí}}{\text{N}^\circ \text{total de respuestas}} \right)$$

$$P(\text{No}) = \left(\frac{\text{N}^\circ \text{total que el observador 1 dijo que No}}{\text{N}^\circ \text{total de respuestas}} \right) * \left(\frac{\text{N}^\circ \text{total que el observador 2 dijo que No}}{\text{N}^\circ \text{total de respuestas}} \right)$$

$$P_e = P(\text{si}) + P(\text{No})$$

Cálculo del Kappa de Cohen

Para calcular el estadístico de Kappa de Cohen se utiliza la siguiente ecuación:

$$K = \frac{(P_o - P_e)}{(1 - P_e)}$$

Capítulo IV: Presentación, Análisis y Discusión de Resultados

La utilización de pruebas de identificación de sangre de la especie humana y animal en una escena del crimen es de vital importancia, porque permitirá definir que pruebas serán necesarias en el caso de que sea sangre de origen humano, para poder identificar la procedencia de esta.

La identificación de evidencia física, en este caso de sangre humana dependiendo del patrón que tiene en la escena del crimen podría permitir tener una idea de lo que realmente sucedió en una situación determinada. El análisis e identificación de material biológico en este caso sangre puede contribuir a la reconstrucción de hechos en algunos casos.

Entonces basado en lo anterior, es importante que los reactivos que se utilizan para la identificación de sangre en las escenas de crimen donde se presume que puede haber presencia de rastros de evidencia biológica tengan una alta sensibilidad y especificidad.

En este caso, los datos obtenidos en las pruebas presuntivas realizadas con Bluestar® Forensic y Luminol, en tela de algodón y alfombra, a temperatura ambiente y a 40°C (durante una hora), muestran una alta sensibilidad y especificidad en la identificación de sangre humana y animal. Tabla 6, tablas 9 y 10

Bluestar® Forensic mostró una sensibilidad de 97% y especificidad de 100%, el Luminol mostró una sensibilidad de 95% y especificidad de 100%

Tabla 6*Muestras utilizadas y resultados*

Sustancia	Mancha de:	N° muestra	Bluestar® Forensic		Luminol		Soporte
Observaciones			O ₁	O ₂	O ₁	O ₂	
Sangre de animal	Sangre de Animal	1 al 8	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Algodón
	Sangre+ NaClO diluida 1/10 lavada 10 veces	9 al 10	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Algodón
	Sangre+ C ₂ H ₄ O ₂ diluida 1/10 lavada 10 veces	11 al 12	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Algodón
	Sangre+ NaOH diluida 1/10 lavada 10 veces	13 al 14	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Algodón
	Sangre+ H ₂ O ₂ diluida 1/10 lavada 10 veces	15 al 16	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Algodón
	Sangre+ NaClO diluida 1/10 lavada 10 veces a temperatura 40°	17 al 18	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Algodón
	Sangre+ C ₂ H ₄ O ₂ diluida 1/10 lavada 10 veces a temperatura 40°	19 al 20	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Algodón

	Sangre+ NaOH diluida 1/10 lavada 10 veces a temperatura 40°	21 al 22	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Algodón
	Sangre+ H ₂ O ₂ diluida 1/10 lavada 10 veces a temperatura 40°	23 al 24	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Algodón
	Sangre+ NaClO diluida 1/10 lavada 10 veces a temperatura 40°	25 al 26	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Alfombra
	Sangre+ C ₂ H ₄ O ₂ diluida 1/10 lavada 10 veces a temperatura 40°	27 al 28	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Alfombra
	Sangre+ NaOH diluida 1/10 lavada 10 veces a temperatura 40°	29 al 30	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Alfombra
	Sangre+ H ₂ O ₂ diluida 1/10 lavada 10 veces a temperatura 40°	31 al 32	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Alfombra
Sangre de humano	Sangre de humano	33 al 46	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Algodón
	Sangre+ NaClO diluida 1/10 lavada 10 veces	47 al 48	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Algodón

	Sangre+ C ₂ H ₄ O ₂ diluida 1/10 lavada 10 veces	49 al 50	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Algodón
	Sangre+ NaOH diluida 1/10 lavada 10 veces	51 al 52	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Algodón
	Sangre+ H ₂ O ₂ diluida 1/10 lavada 10 veces	53 al 54	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Algodón
	Sangre+ NaClO diluida 1/10 lavada 10 veces a temperatura 40°	55 al 56	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Algodón
	Sangre+ C ₂ H ₄ O ₂ diluida 1/10 lavada 10 veces a temperatura 40°	57 al 58	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Algodón
	Sangre+ NaOH diluida 1/10 lavada 10 veces a temperatura 40°	59 al 60	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Algodón
	Sangre+ H ₂ O ₂ diluida 1/10 lavada 10 veces a temperatura 40°	61 al 62	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Algodón
	Sangre+ NaClO diluida 1/10 lavada 10 veces a temperatura 40°	63 al 64	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Alfombra

	Sangre+ C ₂ H ₄ O ₂ diluida 1/10 lavada 10 veces a temperatura 40°	65 al 66	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Alfombra
	Sangre+ NaOH diluida 1/10 lavada 10 veces a temperatura 40°	67 al 68	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Alfombra
	Sangre+ H ₂ O ₂ diluida 1/10 lavada 10 veces a temperatura 40°	69 al 70	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Alfombra
Productos químicos	Hipoclorito de sodio (NaClO)	71 al 72	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Algodón
	Ácido acético (C ₂ H ₄ O ₂)	73 al 74	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Algodón
	Hidróxido de sodio (NaOH)	75 al 76	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Algodón
	Peróxido de hidrógeno (H ₂ O ₂)	77 al 78	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Algodón
Agua destilada	Agua destilada (H ₂ O)	79 al 80	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Algodón

Nota: Muestra los resultados de las observaciones cualitativas de las muestras de tela de algodón y alfombra tratadas con los reactivos Bluestar® Forensic y Luminol bajo condiciones de oscuridad. Fuente: Elaboración propia.

Además, los resultados obtenidos en aquellas muestras en las cuales se les aplico hipoclorito de sodio, ácido acético, Hidróxido de sodio y Peróxido de hidrógeno y se lavaron después de aplicado estos productos, **mostraron una alta sensibilidad y especificidad** como se puede observar en las tablas 9 y 10.

Tabla 7

Resultados cualitativos de las pruebas Bluestar® Forensic y luminol, Observador 1

	Resultados	Muestras Positivos	Muestras Negativas	Total
Bluestar® Forensic.	Positivo	35	0	40
	Negativo	1	4	
Luminol	Positivo	35	0	40
	Negativo	2	3	

Nota: Muestra los resultados cualitativos obtenidos de las pruebas realizadas de Bluestar® Forensic y Luminol, de verdaderos positivos (VP), verdaderos negativos (VN), falsos positivos (FP) y falsos negativos (FN) . Elaboración propia

Tabla 8

Resultados cualitativos de las pruebas Bluestar® Forensic y luminol, Observador 2

Prueba	Resultados	Muestras Positivos	Muestras Negativas	Total
Bluestar® Forensic.	Positivo	35	0	40
	Negativo	1	4	
Luminol	Positivo	35	0	40
	Negativo	2	3	

Nota: Muestra los resultados cualitativos obtenidos de las pruebas realizadas de Bluestar® Forensic y Luminol, de verdaderos positivos (VP), verdaderos negativos (VN), falsos positivos (FP) y falsos negativos (FN) . Elaboración propia

Tabla 9

Resultados estadísticos Bluestar® Forensic.

VARIABLE	Prueba Bluestar® Forensic		Concordancia
Análisis estadístico	Observador 1	Observador 2	---
Sensibilidad	97%	97%	---
Especificidad	100%	100%	---
Valor Predictivo Positivo	100%	100%	---
Valor Predictivo Negativo	80%	80%	---
Exactitud	98%	98%	---
Índice de Kappa	1	1	Concordancia total

Nota Muestra los resultados estadísticos de sensibilidad, especificidad, Valor Predictivo Positivo, Valor Predictivo Negativo, exactitud y el Índice de Kappa de los datos cualitativos de las muestras que fueron sometidas a la prueba de Bluestar® Forensic. Fuente: Elaboración propia

Tabla 10

Muestra los resultados estadísticos Luminol

VARIABLE	Prueba Luminol		Concordancia
Análisis estadístico	Observador 1	Observador 2	---
Sensibilidad	95%	95%	---
Especificidad	100%	100%	---
Valor Predictivo Positivo	100%	100%	---
Valor Predictivo Negativo	60%	60%	----
Exactitud	95%	95%	----
Índice de Kappa	1	1	Concordancia total

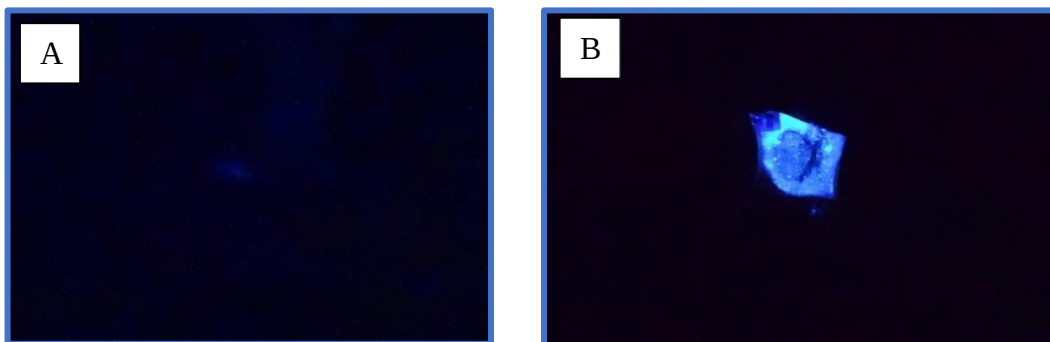
Nota: Muestra los resultados estadísticos de sensibilidad, especificidad, Valor Predictivo Positivo, Valor Predictivo Negativo, exactitud y el Índice de Kappa de los datos cualitativos de las muestras que fueron sometidas a la prueba de Luminol. Fuente: Elaboración propia.

En la tabla 6, se pueden observar los resultados obtenidos de las 40 muestras a las cuales se les aplicó Bluestar® Forensic y 40 muestras a las cuales se les aplicó Luminol, donde Bluestar® Forensic presentó un resultado falso positivo (tela de algodón), lo cual pudo deberse a la presencia de residuos de cloro lo cual concuerda con el manual del producto comercial donde expresa que puede deberse la identificación de reacciones falsas (falsos positivos) por presencia de detergentes caseros o cloro.

Además, el manual de la prueba Bluestar® Forensic expresa que las reacciones falsas o falsos positivos son marcadamente más débiles y emblanquecidas lo cual puede observarse claramente en la fotografía 1 a) falso positivo en tela de algodón Bluestar® Forensic y b) positivo en tela de algodón con Bluestar® Forensic. Según Cedrón (2011), la presencia de un anión de hipoclorito (ClO^-) puede provocar una reacción de oxidación-reducción provocando un falso positivo.

Figura 6.

Resultado



Nota: Muestra el resultado falso positivo (A) obtenido en la muestra de tela con cloro y el Verdadero Positivo (B) obtenido en la muestra de tela de algodón con sangre. Fuente: Elaboración propia.

En el caso de los dos falsos positivos que se detectaron con Luminol, fueron perceptibles al ojo de las dos observadoras, pero fue difícil captarlas con la cámara digital compacta Sony HX400V.

Los resultados positivos o negativos que se observan en la tabla 6, en tela de algodón y alfombra, son seguridad se puede definir que los resultados positivos en sangre humana y animal (ganado vacuno) están fundamentadas según Gómez (2020, como se citó en Albrech, 1928) por las reacciones químicas que ocurren por la presencia de peroxidasas que reaccionan con el radical amino que tiene el Luminol y el radical carboxilo de las proteínas de la sangre activados por átomos de hierro que se encuentran a nivel de la hemoglobina de los eritrocitos, también es importante que además de la presencia de los radicales amino, carboxilo, átomos de hierro, se necesita la presencia de cobre y cobalto que son químicos que catalizan la reacción del Bluestar® Forensic y Luminol con las peroxidasas.

Cuellar (1998), Paonessa (2008) y Gaensslen (2000), indican que las manchas de sangre humana y animal por contener en su estructura hierro como parte del grupo Hem, aunque sean presencia de trazas de hierro pueden reaccionar directamente con reactivos que tienen Luminol ($C_8H_7O_2N_3$) y Bluestar® Forensic (que tiene una mezcla de Luminol) logran detectar y mostrar una quimioluminiscencia. Además, Castelló *et al* (2004) también manifiesta que el estado de oxidación del hierro Fe^{2+} presente en la hemoglobina es un poderoso catalizador que permite una excelente oxidación de los reactivos Bluestar® Forensic y Luminol. Así, mismo Cedron (2011) y Monserrat *et al* (2014) confirman estos procesos de oxido reducción donde juega un papel importante la presencia de hierro.

Con base, a los resultados obtenidos para la prueba realizada con Bluestar® Forensic y Luminol con manchas de sangre humana y animal a temperatura normal y 40°C (por una hora), el Bluestar® Forensic presenta una mayor sensibilidad que la prueba de Luminol, lo cual se puede observar en la calidad e intensidad de la quimioluminiscencia que presenta el Bluestar® Forensic en comparación con Luminol las cuales son de menor intensidad en condiciones de oscuridad.

Aunque ambas presentan, un 100% de especificidad y un valor de Kappa igual a 1. En este caso, se comprueba la hipótesis planteada de que el reactivo Bluestar® Forensic tiene una mejor eficacia para la identificación de muestras de sangre humana y animal en diferentes sustratos. También, se demuestra que ambos reactivos el Bluestar® Forensic y el Luminol pueden ser útiles para la detección de manchas de sangre de interés criminalístico reduciendo las probabilidades de falsos positivos (según el resultado obtenido del Bluestar® Forensic 1 falso positivo y el Luminol

2 falsos positivos) lo cual concuerda con los estudios que fueron realizados por Castello et al (2010), Webb (2006) y Sarmiento (2015).

La intensidad de la quimioluminiscencia de Bluestar® Forensic versus Luminol, para detectar manchas de sangre humana y animal, para poder visualizar y tomar fotografías de la quimioluminiscencia de Luminol fue necesario una total oscuridad, en cambio Bluestar® Forensic no necesita una total oscuridad para visualizar la intensidad de la quimioluminiscencia, lo cual coincide con el estudio realizado por Dilbeck (2006), Suart *et al* (2005), Pex, (2005) y Young (2006).

Conclusiones

1. El reactivo Bluestar® Forensic posee mayor sensibilidad y exactitud que el reactivo Luminol.
2. El reactivo Bluestar® Forensic requiere menores condiciones de oscuridad en el ambiente debido a que presenta mayor intensidad después de la aplicación que el reactivo de Luminol.
3. La formulación del reactivo Bluestar® Forensic es una modificación de la molécula de Luminol, mas efectiva debido a que genera luminiscencia mas intensa y duradera, que el reactivo de Luminol, para la detección de rastros de sangre.
4. Los reactivos Bluestar® Forensic y Luminol no presentaron ninguna diferencia en la detección de sangre en la evaluación de temperatura a 25°C y 40°C.
5. El resultado Falso Positivo que se observó con el reactivo Bluestar® Forensic, se debió a la presencia de Hipoclorito de Sodio a una concentración del 4.72%.
6. Los resultados Falsos Positivos que se observó con el reactivo Luminol se debió a la presencia de Hipoclorito de Sodio a una concentración del 4.72% y ácido acético a una concentración del 5%.

Recomendaciones

1. Se debe realizar estudios o pruebas adicionales para poder determinar el límite de detección de muestras diluidas de sangre (con concentración conocida) con Bluestar® Forensic.
2. Contar con materiales y condiciones necesarios para la realización de pruebas presuntivas, de detección de sangre, para obtener los resultados esperados en la práctica.
3. Utilizar la prueba de HemaTrace® ABACard® que es específica para la detección de sangre humana y poder diferenciar contaminantes de otras fuentes de sangre, debido a que ésta tiene una alta sensibilidad y especificidad.

Referencias

- Aparicio, E. (31 de agosto de 2017), *Técnicas Colorimétricas*. Studocu.
<https://www.studocu.com/gt/document/universidad-de-san-carlos-de-guatemala/quimica/articulo-08-tecnicas-colorimetricas/15597639>
- Ayón, M. (2019). *Biología Forense*. Opera Lilliona. <http://www.lillo.org.ar/revis/opera-lilloana/2019-ol-v54.pdf>
- Bermúdez, T. (2011). Luminol, El Compuesto Químico que arroja luz sobre la escena del Crimen. *Moleqla Revista de Ciencias de la Universidad Pablo Olavide*, 1 (36), 31-32.
<https://www.upo.es/cms1/export/sites/upo/moleqla/documentos/Numero36/Numero-36.pdf>
- Bevel, T & Gardner, R. (2008), *Bloodstain Pattern Analysis with an Introduction to crime scene reconstruction*. CRP press.
- Bluestar Forensic. (28 de enero 2008). *La historia de BLUESTAR*. Bluestar Forensic.
<https://www.bluestar-forensic.com/es/la-historia-de-bluestar/>
- Bluestar. (26 de marzo 2016). *Bluestar Forensic, Modo de empleo*. Bluestar Forensic,
<https://www.bluestar-forensic.com/es/la-quimica-de-bluestar-forensic/#:~:text=BLUESTAR%C2%AE%20FORENSIC%20es%20un,agentes%20reactivos%20basados%20en%20luminol>
- Bluestar. (s.f.). *Uso de BLUESTAR en una presunta escena del crimen*. Bluestar Forensic,
<https://www.bluestar-forensic.com/es/consejo-uso-bluestar-forensic-como-usar/>
- Castañeda, A. (2017). *Análisis comparativo entre el reactivo de luminol y Blue-star para la identificación de sangre alterada con diversos limpiadores en las distintas superficies más comunes de México, para la identificación de indicios biológicos forenses*. [Tesis de grado, Universidad del valle de México].
https://www.academia.edu/35706849/Luminol_and_Bluestar_comparison_docx
- Castelló, A., Álvarez, M., Miquel M. y Verdú, F. (2002). Revelado de manchas latentes: efectividad del luminol y evaluación de su efecto sobre el estudio del DNA. *Cuadernos de*

medicina forense. 1(28), 33-36. <https://scielo.isciii.es/pdf/cmfn28/original2.pdf>

Castello, E., Gil, P. y Negre M. (2010). Técnica de criminalística en manchas de sangre: Factor ambiental en las pruebas de orientación. *Revista de la escuela de Medicina Legal*. 2 (1). 1-11.

Cedron, C. 2011. La molécula destacada: El luminol. *Revista de Química (PUCP)* 25(1-2). 13-14. <https://revistas.pucp.edu.pe/index.php/quimica/article/view/4606>

Chub, A. (2018). *Tendencias de los patrones de sangre en las Escenas de Crímenes provocadas con armas Blancas*. [Tesis de grado, Universidad San Carlos de Guatemala].

<http://recursosbiblio.url.edu.gt/tesisjrca/2018/07/03/Chub-Adolfo.pdf>

Condón, G. y Lucero, A. (16 de febrero de 2010) *Eficacia de BLUESTAR Forense, BLUESTAR Forense Magnum y Luminol*. Criminalística Phoenix. . <https://criminalistica.mx/areas-forenses/hematologia-y-serologia/1015-validacion-y-comparacion-de-la-robustez-y-de-la-eficacia-de-bluestar-forense-bluestar-forense-magnum-y-luminol>

Dilbeck, L. (2006). Use of Bluestar Forensic in Lieu of Luminol at Crime Scenes. *Journal of Forensic Identification*. 706 (56). 1-15. <https://docplayer.net/14471387-Use-of-bluestar-forensic-in-lieu-of-luminol-at-crime-scenes.html>

ESINDUS. (2020, marzo 23). *Quimioluminiscencia* Esindus.

<https://www.esindus.com/instrumentacion-y-analitica/productos/analitica/quimioluminiscencia/>

Gómez, J. (2020). La importancia de la serología forense en la investigación criminal y forense. [Tesis de Licenciatura, Universidad Rafael Landívar].

<http://recursosbiblio.url.edu.gt/tesiseortiz/2021/07/03/Gomez-Jorge.pdf>

Griner, PF, Mayewski, RJ, Mushlin, AI, Greenland, P. 1981. Selection and interpretation of diagnostic test and procedures. Principles and Applications. *Ann Intern Med* 1981, 94: 557-592.

López, P. (2008). *Investigación Criminal y Criminalística*. Editorial Temis.

Mendoza, D., Santos, J. y Paredes, Wilmer. (2017). Efecto del sustrato sobre las pruebas de orientación quimioluminiscentes (Bluestar Forensic y Luminol) en la detección de restos Hemáticos. *Revista de Postgrado SCIENTIARVM*. 3(2), 59-65. <http://www.scientiarvm.org/detalle-pdf.php?IdA=74&Id=9>

- Ministerio Público. (2013). *Manual de Normas y Procedimientos para el Procesamiento de la Escena del Crimen*. [Archivo PDF]. <https://www.studocu.com/gt/document/universidad-rafael-landivar/criminalistica/manual-np-escena-del-crimen-al-10-sep-13/14554057>
- Monserrat, E. (2014). *Implementación de los métodos de Luminol y o-toluidina para la detección de sangre comparación de su utilidad*. Universidad Veracruzana. Instituto de Medicina Forense. [Tesis de maestría, Universidad Veracruzana, instituto de medicina]. <https://www.uv.mx/veracruz/mmf/files/2014/10/ERICA-MONTSERRAT-VERA-ACOLT-PROTOCOLO.pdf>
- Moreno, M. (11 de febrero de 2016). *Análisis e interpretación de los patrones de manchas de sangre*. Repositorio institucional de la Universidad de Murcia <https://digitum.um.es/digitum/handle/10201/49703>
- Patel, G. y Hopwood, A. (2013). An evaluation of luminol formulations and their effect on DNA profiling. *Int J Legal Med* (2013) 127:723–729.
- Pex, James O; The use and limitation of luminol in bloodstain pattern analysis. (2005) *News (IABPA)* 21(4), pp 11-15
- Sarmiento, V. (2015). *Validación de las técnicas Blue Star Forensic y Luminol para detección de sangre en manchas de interés criminalístico en el laboratorio, Trujillo, 2015*. [Tesis de grado, Universidad nacional de Trujillo]. <https://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/9010>
- Sierra, M (2011). *Informe final de ejercicio profesional supervisado -epsrealizado en instituto nacional de ciencias forenses de Guatemala -INACIF*. [Trabajo de grado, Universidad de San Carlos de Guatemala]. <https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/Tesis/EPSQB1080.pdf>
- Sierra-Arango F. 2003. La sensibilidad y especificidad: entendiendo su origen y utilidad real. *Rev Col Gastroenterol* 2003; 18:180-182.
- Singer, R. (23 de junio de 2008) *Police: Teen Confesses, Reenact 2006 killing of Anat Pliner*. <https://www.haaretz.com/2008-06-23/ty-article/police-teen-confesses-reenacts-2006-killing-of-anat-pliner/0000017f-dc36-d3ff-a7ff-fdb665390000>

Sniegovski, M., Bortolatto, J y Formolo, F. (2017). Manchas de sangre: El análisis de su patrón en la escena del crimen. *Revista Skopein*. 1(14). 6-19. file:///C:/Users/undea/Downloads/Dialnet-ManchasDeSangre-5763380.pdf

Suart H. James, Paul, E. Kish. (2005). Principals of Bloodstain Patterns Analysis: Theory and Practices. 3rd Edition CRC Press Taylor & Francis Group LLC y Fl.

Oficina de las Naciones Unidas Contra la Droga y el Delito. (2009). *La escena del delito y las pruebas materiales*. [Archivo PDF]
https://www.unodc.org/documents/scientific/Crime_scene_Ebook.Sp.pdf

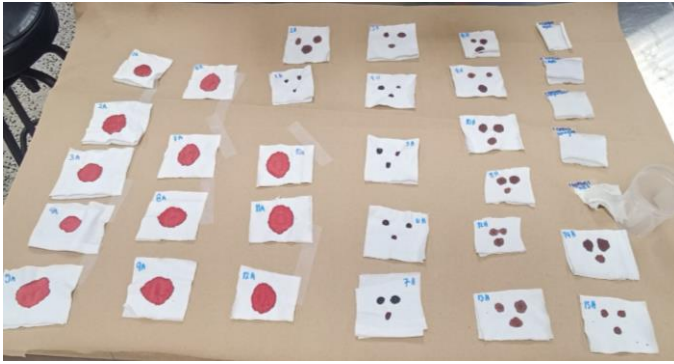
Vallejo, J. (20 de diciembre de 2012). La química en las investigaciones Forenses.
<https://triplenlace.com/2012/12/20/la-quimica-en-las-investigaciones-forenses/>

Vizcaino-Salazar, G. 2017. Importancia del cálculo de la sensibilidad y especificidad y otros parámetros estadísticos en el uso de las pruebas de diagnóstico clínico y de laboratorio. *Medica colombiana*. 23 (7-8), 365-386.
<https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/05/883697/importancia-calculo-sensibilidad-y-especificidad.pdf>

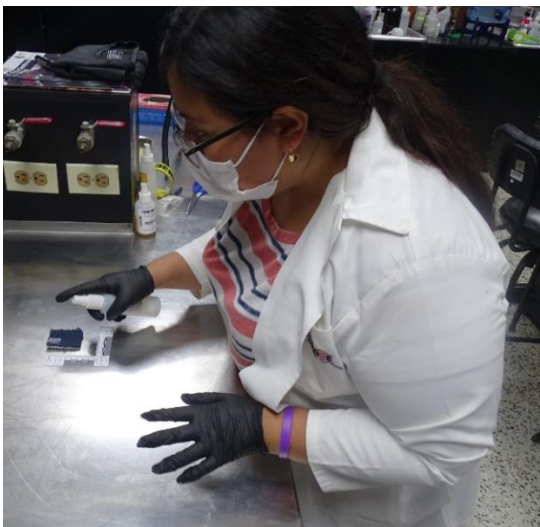
Webb, S. (2006). Luminol vs *Bluestar*®: A Comparison Study of latent blood reagents. [Archivo PDF].
https://bluestar-forensic.com/wp-content/uploads/2020/09/st_louis_comparison_study.pdf

Young, T. (2006). A Photographic Comparison of Luminol, Fluorescein, and *Bluestar*. *Journal of Forensic Identification*, 56(6), 906-912. https://www.bluestar-forensic.com/wp-content/uploads/2020/09/jfi_56_young.pdf

Anexos



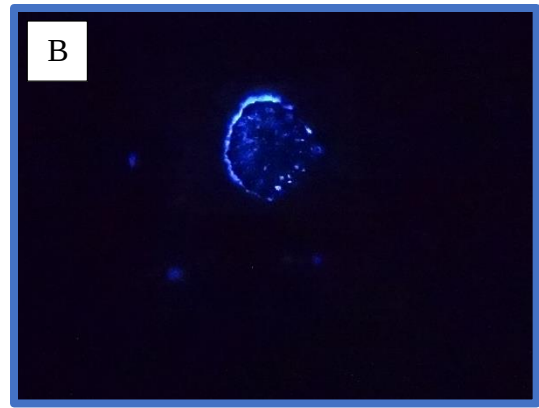
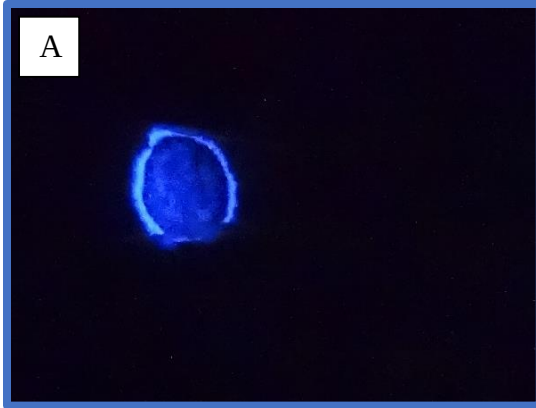
1. Muestras de tela de algodón a las cuales se les aplico Luminol.



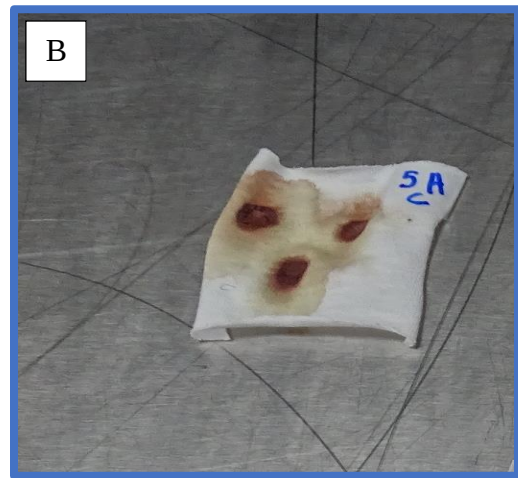
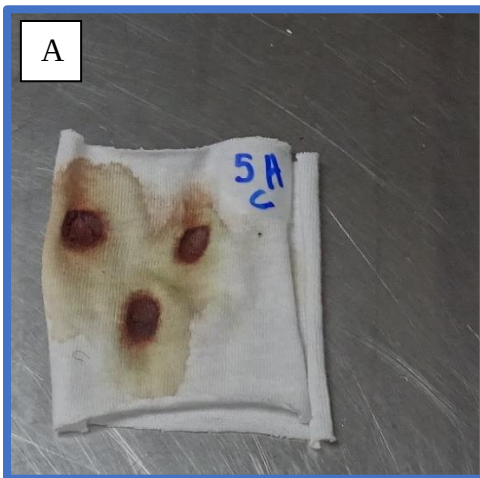
2. Aplicación de los reactivos de Bluestar® Forensic y Luminol a muestras de tela de algodón con sangre humana.



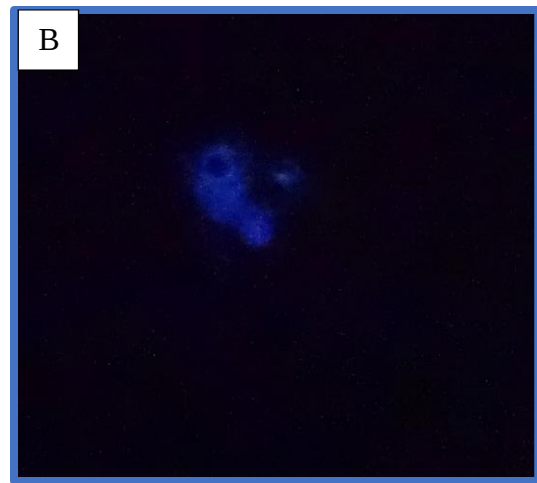
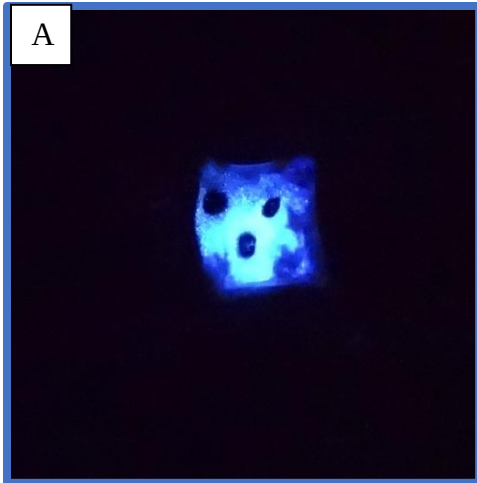
3. Muestras de tela de algodón con sangre animal: A) se le aplico Bluestar® Forensic y B) se le aplico Luminol.



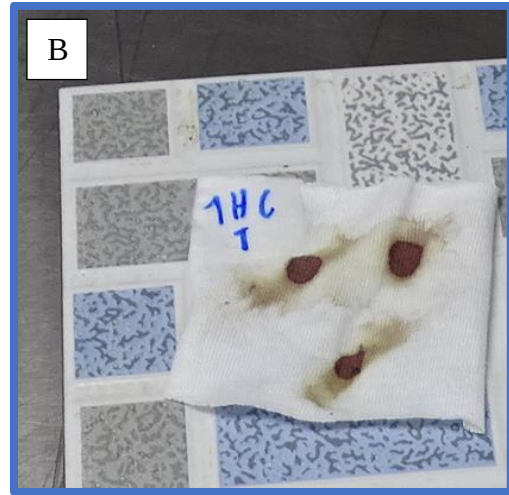
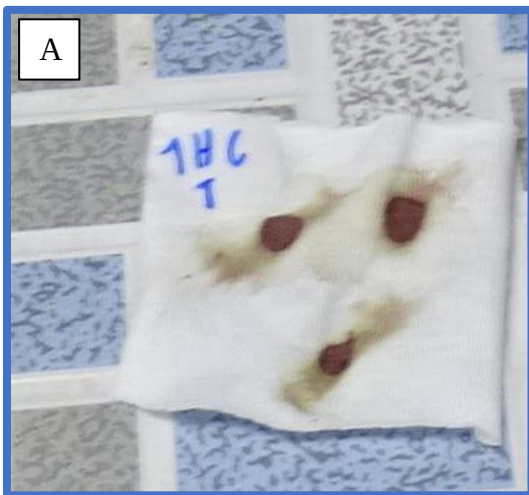
4. Quimioluminiscencia: A) reacción de Bluestar® Forensic y B) reacción de Luminol.



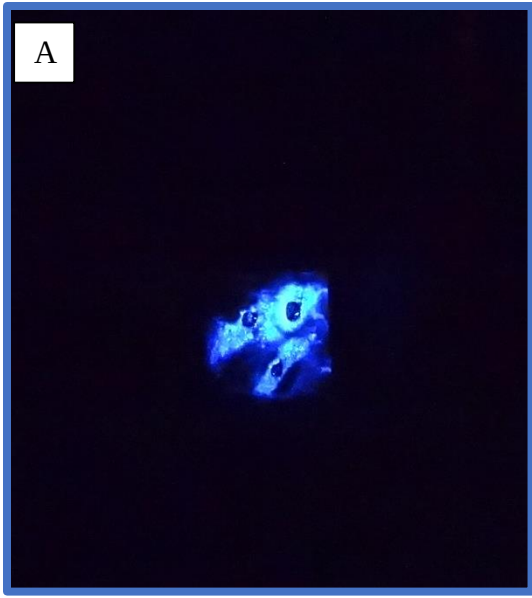
5. Muestras de tela de algodón con sangre animal mas cloro.



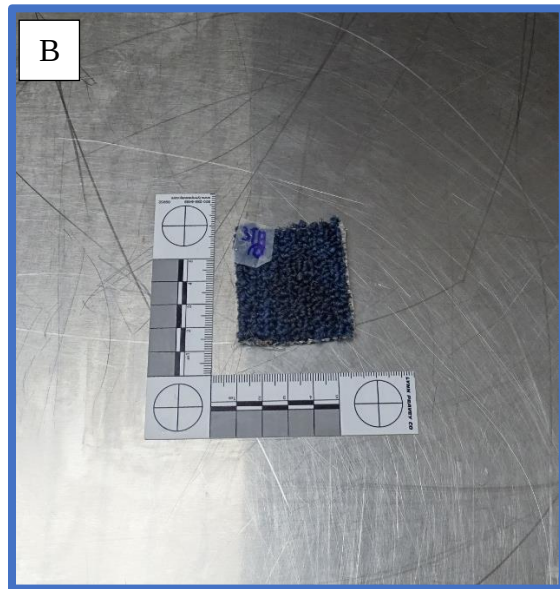
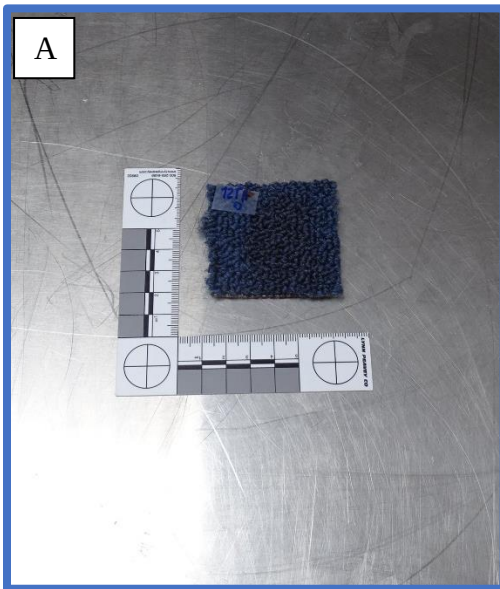
6. Quimioluminiscencia de muestra de tela de algodón mas cloro: A) con Bluestar® Forensic y B) con Luminol.



7. Muestra de tela de algodón con sangre humana a 40°C (1 hora).



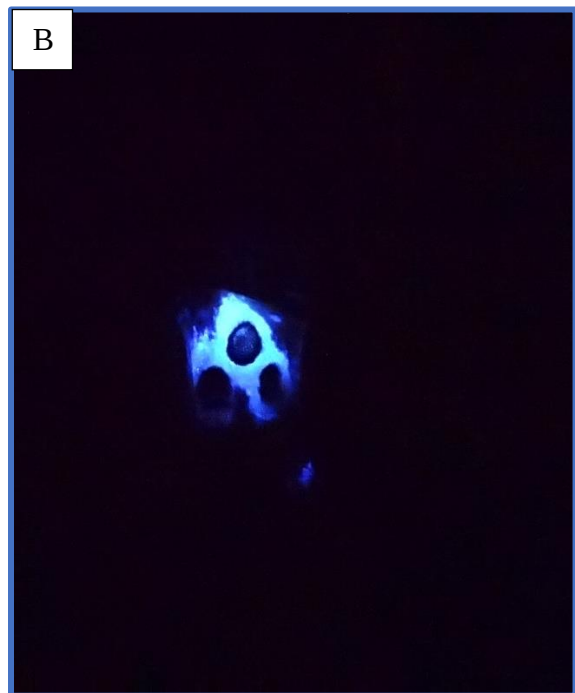
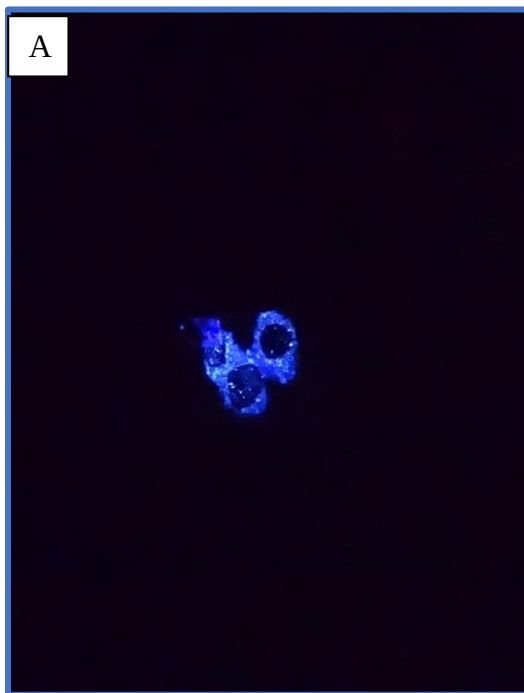
8. Muestra de tela de algodón con sangre humana a 40°C (1 hora): A) con Bluestar® Forensic y B) con Luminol.



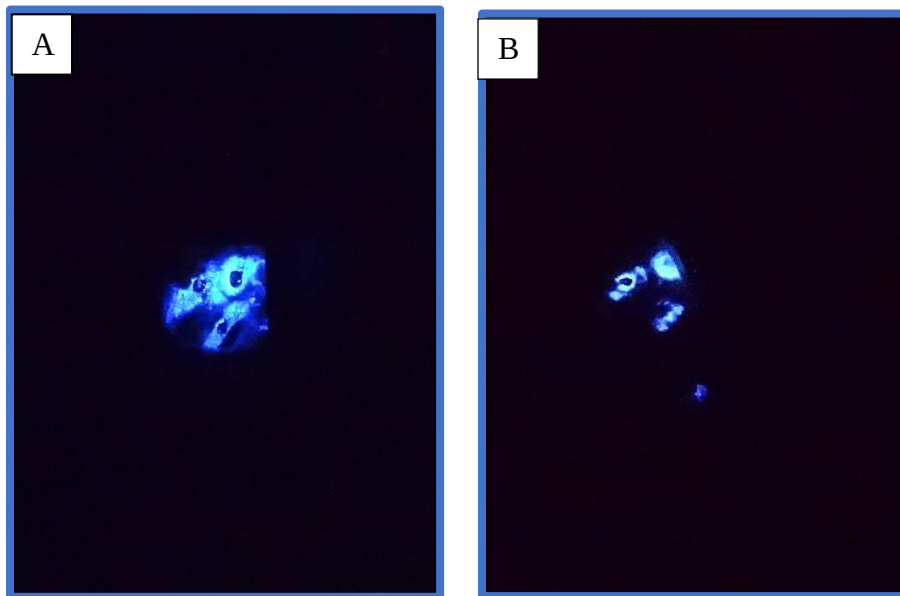
9. Muestras de Alfombra con sangre humana a 40°C (1 hora).



10. Muestras de Alfombra con sangre humana a 40°C (1 hora). A) con Bluestar® Forensic y B) con Luminol.

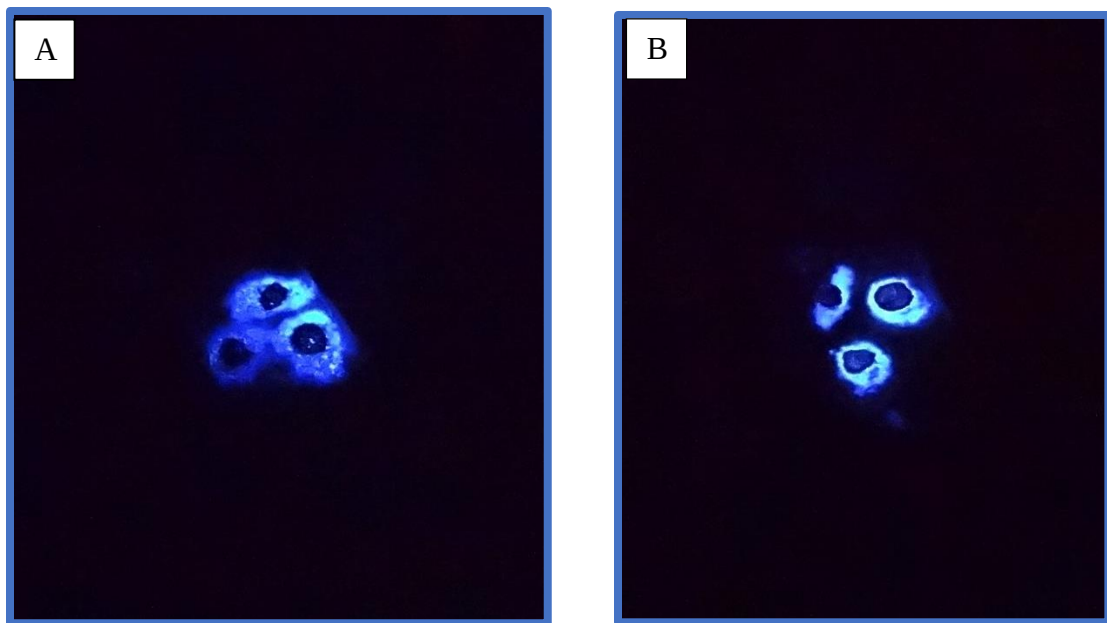


11. Muestras de tela con sangre humana lavado con ácido acetico a 40°C (1 hora). A) con Bluestar® Forensic y B) con Luminol.



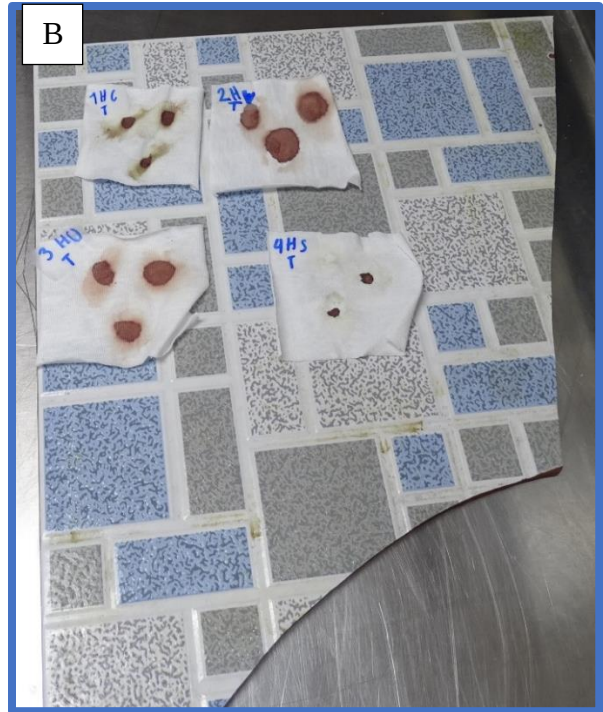
12. Muestras de tela con sangre humana lavado con hipoclorito de sodio a 40°C (1 hora).

A) con Bluestar® Forensic y B) con Luminol.

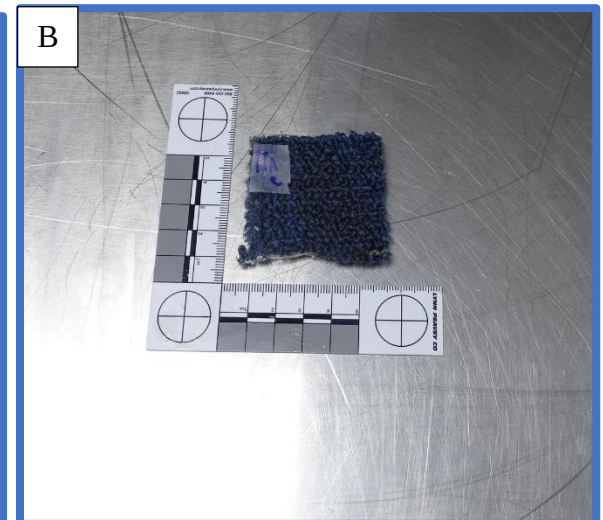
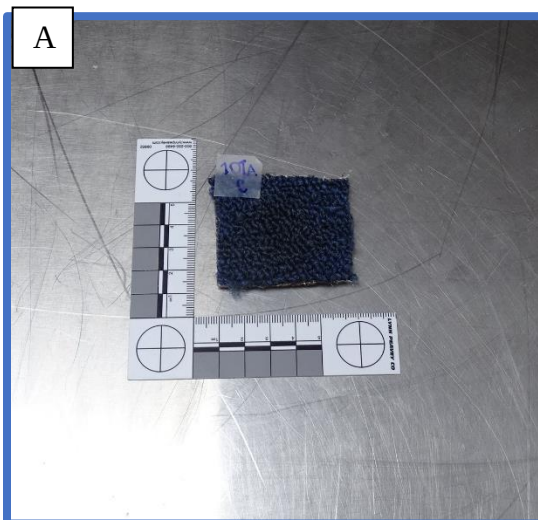


13. Muestras de tela con sangre humana lavado con peroxido de hidrogeno 40°C (1 hora) con

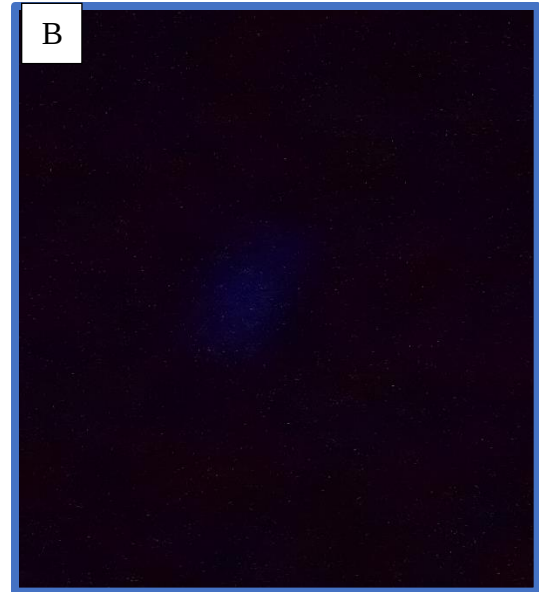
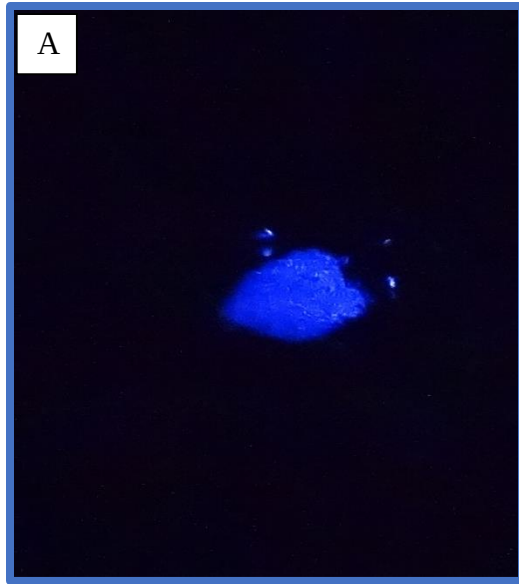
A) Bluestar® Forensic y B) con Luminol.



14. Muestras de tela de algodón con sangre humana, lavadas con Hipoclorito de sodio (NaClO), Peróxido de hidrogeno (H_2O_2), Ácido acético ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$), Hidróxido de sodio (NaOH), las cuales A) se le aplicó Bluestar® Forensic y B) con Luminol.



15. Muestras de alfombra con sangre animal a 40°C (1 hora) con hipoclorito de sodio donde A) se le aplico Bluestar® Forensic y B) Luminol



16. Muestras de alfombra con sangre animal a 40°C (1 hora) con hipoclorito de sodio
A) con Bluestar® Forensic y B) Luminol