



GHEP-2011

EJERCICIO FORENSE:

ESTUDIOS PRELIMINARES

M^a Jesús Iturralde
Servicio de Biología. Departamento de Madrid
Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses

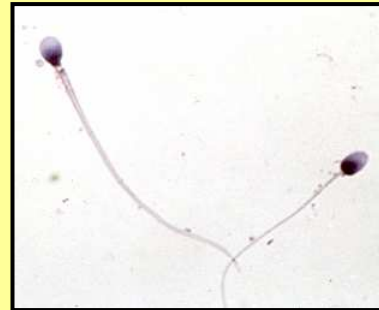
Viena- 29-Agosto-2011

Importancia de los Análisis Preliminares en los Laboratorios Forenses

1.- Determinar la naturaleza biológica del vestigio y su especie de procedencia



Sangre



Semen



Saliva

2.- Conociendo la naturaleza de los componente de una mancha se puede seleccionar que análisis genéticos son los más adecuados y de esta manera utilizar la muestra adecuadamente.

GHEP-2011

EJERCICIO FORENSE:

Nivel básico

Muestra M-5

- ✓ Para identificación de fluidos y análisis genético

**¿Podría la muestra forense M-5
corresponderse con una mezcla de fluidos?.**

**Establezca la naturaleza de los posibles
componentes de la misma?**

M-5 se trata de una muestra de dos sangres humanas

Muestra M-6: tallo de pelo

- ✓ Para análisis de ADN mitocondrial

EJERCICIO NIVEL BÁSICO

Nº Laboratorio que participan	Muestras	Sangre	Semen	Saliva
49	M-5:	46	45	29
19	M-6:	19	18	12

Muestra - M-5

Realizan 49 laboratorios		Conclusiones					
		No concluye	Hay Sangre	Sangre humana	Al menos sangre	Mezcla Sangre, al menos dos	Mezcla sangre M-1 y M-3
28	• Sangre, semen, saliva	19	---	2	4	1	2
14	• Sangre y semen	9	3(*)	1	1	---	---
1	• Semen y saliva	---	1	---	---	---	---
4	• Solo sangre	3	---	1	---	---	---
2	• Solo Semen	2	---	---	---	---	---
49	TOTAL	33	4	4	5	1	2

(*): 2 lab: podría contener restos de saliva, pero no tienen método implementado para su detección.

1 lab: pero no se ha evidenciado la presencia de esperma

Observaciones a los resultados de los análisis de Semen: Muestra M-5

- **2 Laboratorios: Microscopia: células epiteliales**

1 lab: *“No se ha evidenciado la presencia de esperma (no se puede afirmar nada sobre la posible presencia de células epiteliales)”*

- **1 laboratorio: Hexagon PSA: inconcluyente**

“No se detectan espermatozoides. No se descarta que pudiera haber restos de semen muy diluido o procedente de un individuo azoospermico aunque los resultados no permiten afirmarlo”

EJERCICIO NIVEL BÁSICO

Observaciones a los resultados de los análisis de Saliva: Muestra M-5

- **1 laboratorio: Phadebas: inconcluyente**

No emite conclusiones

- **1 laboratorio: SaligAE: inconcluyente**

“Muestra de fluidos biológicos de dos o mas personas. En esta mezcla se ha detectado sangre de origen humana”

Muestra M-6

EJERCICIO NIVEL BÁSICO

Muestra – M-6

Participan 19 laboratorios		No concluyen	Preliminares negativas	Ni sangre ni semen	No puede determinar si hay contaminación
12	• Sangre, semen y saliva	9	2 (**)	---	1
6	• Sangre y semen	4	---	2	---
1	• Solo Sangre	1 (*)	---	---	---
19	TOTAL	14	2	2	1

(*): Kastle-Meyer: positivo

(**): Hexagon OBTI TEST positivo muy leve al cabo de 30 minutos pero se interpreta, según fabricante, negativo.

EJERCICIO NIVEL BÁSICO

Observaciones a los resultados de los análisis de Saliva: Muestra M-6

- **1 laboratorio: Phadebas: inconcluyente**

No emite conclusiones

GHEP-2011

EJERCICIO FORENSE:

Nivel avanzado

Muestras M-7 y M-8

✓ Para identificación de fluidos y análisis genético

¿Podrían las muestras forenses M-7 y M-8 corresponderse con una mezcla de fluidos?.

Establezca la naturaleza de los posibles componentes de la misma

- **Muestra M-7: se trata de una muestra de sangre no humana (perro)**
- **Muestra M-8: se trata de una mezcla de sangre de dos donantes y espermatozoides de un tercer donante**

Muestra M-9

✓ Para análisis de ADN mitocondrial e investigación de posible contaminación

- **Muestra M-9: cabello de mujer contaminado con saliva con trazas de sangre**

Nº Laboratorio que participan	Muestras	Sangre	Semen	Saliva
39	M-7:	37	33	21
38	M-8:	37	35	21
26	M-9:	20	21	18

Muestra M-7

Muestra - M-7

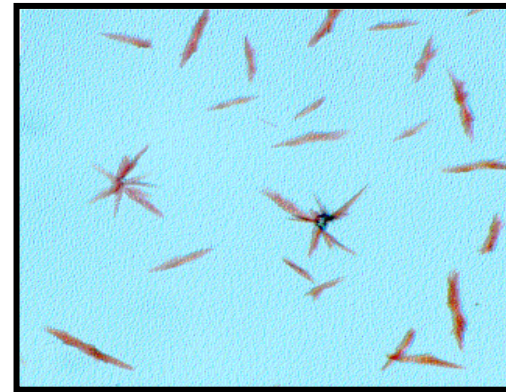
Realizan 39 laboratorios		Conclusiones					
		No concluye	Sangre no humana	Origen no humano	Especie perro	Perfil genético	S. animal o sust.+ Adler
8	• Sangre, semen, saliva, d. especie	---	---	---	8	---	---
13	• Sangre, semen, saliva	4	4	4	---	1	---
10	• Sangre y semen	---	2	7	---	1	---
1	• Sangre, semen y d. especie	---	---	---	1	---	---
2	• Sangre	---	1	---	---	---	1
2	• Sangre y d. especie	---	---	---	2	---	---
1	• Solo Semen	1	---	---	--	---	---
2	• No dice que preliminares hace	---	---	1	1	---	---
39	TOTAL	5	7	12	12	2	1

Observaciones a los resultados de los análisis de Sangre: Muestra M-7

- Hay solo 6 laboratorios que hacen pruebas de certeza



Cristales de Teichman



Cristales de Takayama

Observaciones a los resultados de los análisis de Semen: Muestra M-7

- **1 laboratorio: Seratec PSA Semiquant: positivo**

Este laboratorio, según informa, solo investiga semen mediante esta prueba en las tres muestras a estudio.

Emite resultado positivo para la Muestra M-7 y negativo para M-8 y M-9.

Por ello, pensamos que puede ser un error transcripción de resultados entre M-7 y M-8.

Observaciones a los resultados de los análisis preliminares: Muestra M-7

- **1 laboratorio: Cristales de Teichman: negativo**

- Adler y Blue Star: positivos
- Hexagon Obti Test, RSID Blood y tinción con Giemsa: negativos
- Hexagon PSA, RSID semen y Microscopia óptica: negativos
- RSID saliva: negativo
- Espectrometria de masas: no se ha encontrado ningún compuesto parecido de los contenidos en la librería del software del analizador.

“Vistos los resultados podemos decir que el estudio de la naturaleza del fluido es no concluyente y podemos afirmar que el fluido no es sangre ni semen ni saliva” Humana

Observaciones a las conclusiones de los análisis Muestra M-7

- **M7 es una mezcla de M1 o M3 y otro individuo**

Este laboratorio, según informa, investiga:

- ✓ **Sangre**
 - **RSID blood: negativo**
- ✓ **Semen**
 - **RSID semen: negativo**
- ✓ **Saliva**
 - **RSID saliva: negativo**
- ✓ **Cuantifica ADN total (espectrofotometría)**

**Para concluir: Tuvo en cuenta los resultados de estos análisis?
Se contaminó el extracto de la muestra con ADN humano?**

Observaciones a las conclusiones de los análisis Muestra M-7

- **La muestra M7 presenta un perfil masculino único diferente al de las muestras M1, M2, M3 y M4.**

Este laboratorio, según informa, investiga:

- ✓ **Sangre**
 - **Adler y Cristales de Teichman: positivos**
 - **Diaspot: negativo**
- ✓ **Semen**
 - **Phosphatesmo: negativo**
- ✓ **Cuantifica ADN total (espectrofotometría)**

**Para concluir: Tuvo en cuenta los resultados de estos análisis?
Se contaminó el extracto de la muestra con ADN humano de varón?**

Análisis para Diagnóstico de especie animal

• ESI-MS	1	Hemoglobina <i>Canis lupus familiaris</i>
• Análisis de ADNmit	1	Sangre de perro
• 16S del ADNmit	1	<i>Canis lupus familiaris</i>
• Citocromo b	1	Origen canino
• Citocromo b	1	<i>Canis lupus familiaris</i>
• Citocromo b (fragmento de 472pb)	1	<i>Canis lupus familiaris</i>
• Citocromo b y HSV-1	1	<i>Canis lupus familiaris</i>
• Citocromo b (fragmento de 175 pb) y Estudio del tamaño del fragmento b de la región HV de perro	1	<i>Canis lupus familiaris</i>
• Citocromo b y FinnZymes Canina Kit panel 1.1	1	<i>Canis lupus familiaris</i>
• 9 STRs	1	Origen canino
• No dicen que análisis hacen	1	<i>Canis lupus familiaris</i>
• No dicen que análisis hacen	1	Sangre de perro

EJERCICIO NIVEL AVANZADO

Muestra: M-7

Sangre	Semen	Saliva
<p>✓ Pruebas orientativas</p> <ul style="list-style-type: none"> -Mini-Crimescope 450 1 -Mini.Crimiscooe MS 400 1 - Crimalite -80S..... 1 - Test de Adler 14 - Kastle Meyer 5 - Thevenon-R 2 - Medinger 1 - Piramidón 2 - Luminol 1 - Blue-Star 1 <p>✓ Pruebas de certeza sangre</p> <ul style="list-style-type: none"> -Cristales de Teichman y Prueba de Takayama..... 6 <p>✓ Inmunocromatografías</p> <ul style="list-style-type: none"> - Hexagon Obti Test 15 - RSID Blood 6 - RapidSignal Occult Blood .. 3 - Hem Check 3 - Seratec Hemdirect 1 - Diaspot 1 - Combur test 1 - Hematrice 1 	<p>✓ Fosfatasa ácida</p> <ul style="list-style-type: none"> - α- naftil 4 - Phosphatesmo 2 <p>✓ Cristales de espermina?</p> <ul style="list-style-type: none"> - Fluorence 1 <p>✓ Antígeno específico de próstata PSA</p> <ul style="list-style-type: none"> -Seratec PSA Semiquant 9 - RapidSignal PSA 5 - Hexagon PSA 4 - Inlab..... 1 - PSA Check 1 1 <p>✓ Semenogelina</p> <ul style="list-style-type: none"> - RSID semen 7 <p>✓ Microscopio</p> <ul style="list-style-type: none"> - Arbol de navidad 5 - Hematoxilina eosina 1 - Giemsa 1 <p>✓ Otros</p> <ul style="list-style-type: none"> - Sibaram/Bami L (+) Tartrato 1 	<p>✓ Actividad del enzima α- amilasa</p> <ul style="list-style-type: none"> - Analisa 1 - Phadebas 5 <p>✓ Enzima α-amilasa humana</p> <ul style="list-style-type: none"> - RSID saliva 16

Muestra M-8

Muestra – M-8

Realizan 38 laboratorios		No concluyen	Concluyen	
			Al menos sangre/semen	Sangre/semen
20	• Sangre, semen, saliva	13	2	5
14	• Sangre y semen	8	2	4 (*)
1	• Sangre y saliva	1	---	---
0	• Semen y saliva	0	---	---
2	• Solo Sangre	1	---	---
1	• Solo Semen	1	---	---
38	Total	24	4	9

(*) y posible saliva, pero no posee método para detectar saliva

Observaciones a los resultados de los análisis de Semen: Muestra M-8

- **1 laboratorio: Seratec PSA Semiquant: positivo.**

Ya comentado en muestra M-7. Emite resultado positivo para la Muestra M-7 y negativo para M-8: **Error de transcripción?**

- **1 laboratorio: Arbol de navidad: negativo**

No emite resultados

EJERCICIO NIVEL AVANZADO: M-8

Observaciones a los resultados de los análisis de Saliva: Muestra M-8

- **1 laboratorio: Phadebas: inconcluyente**

Este laboratorio da, tanto para la muestra M-5 como para la muestra M-8 un resultado inconcluyente para el test de Phadebas

- **1 laboratorio: Phadebas: positivo**

No emite conclusiones

Muestra M-9

Muestra - M-9

Realizan 26 laboratorios		No concluyen	El contaminantes es			Ni sangre ni semen ni saliva
			Sangre	Saliva	Orina	
1	• Sangre, semen, <i>saliva</i> , orina	-----	-----	-----	1	-----
12	• Sangre, semen, <i>saliva</i>	2 + 4(RSID+)	1	4		1
3	• Sangre y semen	2				1
2	• Sangre y <i>saliva</i>	2 (Pha, Otros+)				
2	• Semen y <i>saliva</i>	2				
2	• Solo sangre	1	1			
3	• Solo semen	3				
1	• Solo <i>saliva</i>	1				
26	TOTAL	17	2	4	1	2

Resultado test Saliva: Muestra M-9

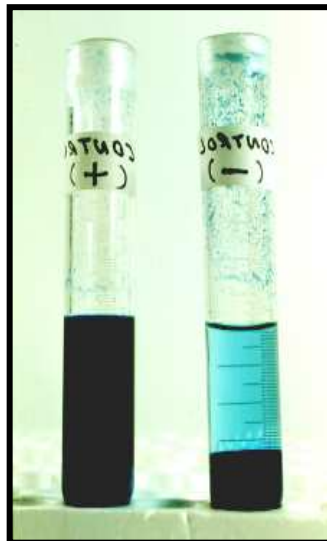
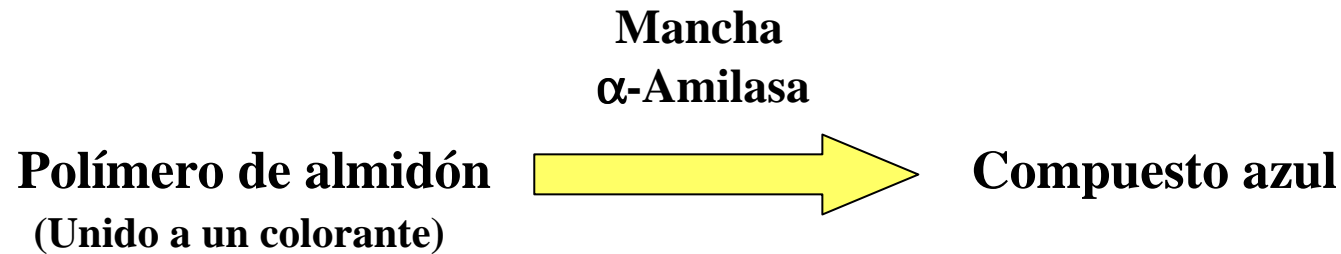
		Phadebas	RSID saliva	Otros
• Saliva positivo	10	1	8	1
• Saliva negativo	8	3	5	
• Saliva inconcluyente	1	1		
Total	19	5	13	1

Comentarios a los resultados

MUESTRAS	Saliva		Semen			Sangre		
	Phadebas	SaligAE	Phosphatemo	Inmunos	Microscopía	Kastle-Meyer	Crislar Teichman	
• M-5	* Incl.	---	Incl.	---	Hexagon PSA: Incl	Cls. epiteliales	----	----
• M-6	* Incl.	---	---	---	----	----	Positivo	----
• M-7	* Incl.	---	---	---	----	----	---	Negativo
• M-8	* Incl	Positivo	---	---	----	Arbol: Neg	----	----
• M-9	* Incl.	---	---	Incl.	Seractec PSA: Incl.	---	----	----

*: ES el mismo laboratorio el que emite “resultado inconcluyente” al Test de Phadebas para todas las muestras

Orina	M-9: positivo
-------	---------------



Positivo: Ab: 620 nm sea > 0.3

Conclusión: Compatible con la presencia de saliva

Interpretación de resultados

- **Falsos negativos** \Rightarrow Enzima poco estable
- **Falsos positivos** \Rightarrow No exclusiva de saliva

Espectrofotometría

CONCLUSIONES

- **Se deben emitir conclusiones de los análisis preliminares**
- **Las conclusiones de los análisis preliminares deben reflejar que fluidos biológicos se han analizado.**
- **Concluir correctamente.**
Ej. Cuando se detecta sangre humana, no decir solo que es sangre sino concluir que se detecta presencia de sangra humana.
- **Recordar que solo con pruebas orientativas no se puede establecer la presencia de ese fluido biológico en la muestra.**

SUGERENCIA PRÓXIMO EJERCICIO

Cuestionario

- Apartados, para cada una de las muestras, donde se pueda explicar cual es el proceso de selección y elución que se realizan para los análisis preliminares.

Posibles datos a incluir:

- Cual es el eluyente empleado: agua, Tris, PBS. etc.
- En que cantidad de volumen se eluye.
- Que volumen del eluyente se utiliza para analizar cada uno de los fluidos

**Nº DE LABORATORIOS QUE HACEN PRELIMINARES:
COMPARACIÓN AÑOS: 2010 Y 2011**

Nº Laboratorio que participan		Muestras	Sangre	Semen	Saliva
GHEP: 2010		M-6:	39	37	27
		M-7:	39	38	27
		M-8:	22	24	22
Nº Laboratorio que participan		Muestras	Sangre	Semen	Saliva
GHEP: 2011	49 (Ejercicio BÁSICO)	M-5	46	45	29
	19 (NO SE SOLICITABA)	M-6	19	18	12
	39 (Ejercicio AVANZADO)	M-7:	37	33	21
	38 (Ejercicio AVANZADO)	M-8:	37	35	21
	26 (Ejercicio AVANZADO)	M-9:	20	21	18