

DAS-ELISA EN LA DETECCIÓN DE IgG HUMANA EN MANCHAS DE SANGRE DE INTERES FORENSE

Alcides Guerra¹
Tomás Agurto
Enrique Castillo

RESUMEN

El presente trabajo tuvo por objetivo validar el método DAS-ELISA, como alternativo al de inmunodifusión usado con frecuencia en Criminalística, para determinar si una mancha de sangre corresponde a sangre humana o animal. Los resultados nos permiten diferenciar una mancha de sangre humana con la de un pollo, pescado, carnero y perro.

El valor predictivo positivo de la prueba alcanzó el 98% y un valor predictivo negativo al 100%.

Palabras Claves: *DAS-ELISA, anti IgG humana, especificidad de sangre.*

SUMMARY

The present work considered objective to validate the method of the DAS-ELISA, as alternative immunodiffusion method used frequently in Criminality, to determine if a spot of blood corresponds to human or animal blood. The results permit to differentiate a spot of human blood among chicken, fish, ram and dog blood. The value to predict positive of the test reached al 98% and a value to predict negative 100%.

Keywords : *DAS-ELISA, anti IgG human, specificity of blood*

INTRODUCCIÓN

Cuando se estudia la escena del crimen, las evidencias más reveladoras que podemos encontrar son las manchas sanguíneas. Un adecuado análisis científico en términos de reconstrucción e identificación de las mismas, proporciona datos importantes en el esclarecimiento del hecho.

En el aspecto de identificación para ser más exacto de identidad biológica, primero debe verificarse si dicha mancha corresponde a sangre (se aplicará un

examen de orientación y certeza) para luego determinar si corresponde a sangre humana. Sin embargo, en ocasiones, las muestras no llegan al laboratorio en condiciones adecuadas en concentración y preservación, por lo que es necesario desarrollar un método de mayor sensibilidad al de inmunodifusión.

El presente trabajo pretende estandarizar un método INMUNOENZIMÁTICO (EIA) empleando anticuerpos monoclonales dirigidos contra la inmunoglobulina G humana.

¹ Laboratorio de Microbiología e Inmunología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Ricardo Palma; aguerra@mail.urp.edu.pe

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron muestras de manchas de sangre humana, pollo, pescado, carnero, y perro impregnadas en gasa.

Se preparó la muestra recortando 0,5 cm² de la gasa impregnada con la mancha de sangre y disuelta en buffer fosfato pH 6,5; se centrifugó a 3 500 RPM por 15 minutos para obtener el sobrenadante.

Se cargó el pocillo, sensibilizado con Anti IgG humana Monoclonal, con 100 μ l del sobrenadante, se incubó a temperatura ambiente por 2 horas. Se lavó tres veces con buffer fosfato y se adicionó a cada pocillo 100 μ l del conjugado (Anti IgG humana conjugado con peroxidasa), incubándose por una hora a temperatura ambiente. Se volvió a lavar tres veces con buffer fosfato.

Se le adicionó el sustrato (Agua oxigenada) y 100 μ l el cromógeno (TMB 3-metil-2-benzotiazolinona hidrazona) y se llevó a incubar a 37 °C por 3 minutos.

Se detuvo la reacción adicionando Acido sulfúrico 2M.

RESULTADOS

Se procesaron 10 muestras de sangre de pollo, 15 de pescado, 18 de carnero, 09 de perro y 56 de humano y los resultados del método de DAS-ELISA, se realizaron visualmente dando positivo el color azul para sangre humana y color grosella para sangre de animales; tal como se muestra en la Tabla 1 y 2.

Tabla 1. Resultados de la determinación de la IgG humana

Muestra	Positivo para IgG humana	Negativo para IgG humana
Pollo	00	10
Pescado	00	15
Carnero	00	18
Perro	00	09
Humano	55	01

Tabla 2 Tabulación de datos

Resultado DAS-ELISA	Sangre humana	Sangre no humana
Positivo	55 (A)	00 (C)
Negativo	01 (B)	52 (D)

$$VP^+ = (A/A+B) 100 = 98\%$$

$$VP^- = (D/C+D) 100 = 100\%$$

DISCUSIÓN

De las 52 muestras (entre las de pollo, pescado, carnero y perro) de sangre no humana ante la detección de la IgG humana resultaron negativas. En el caso de las 56 muestras de sangre humana una muestra resultó como negativa. Este resultado puede deberse al método seguido en la obtención de la muestra. Se recomienda tomar en cuenta el tiempo de incubación de la muestra en el pocillo sensibilizado.

CONCLUSIONES

Estos resultados nos permiten asegurar que el método del DAS-ELISA, puede utilizarse para reconocer la IgG humana en manchas de sangre, con poca cantidad de muestra. El valor predictivo para la prueba positiva alcanzó el 98% y para la prueba negativa el 100%.

LITERATURA CITADA

- MARGNI, R. 1996 Inmunología e Inmunoquímica 5ta Edición Editorial Panamericana Buenos Aires
- SUMIKO, A.; SATOCHI, K.; TEIZO, F.; KOUICHI, H. 1998 Detection of human seminal α -glutamyl transpeptidase in stains using sandwich ELISA *Forensic Science International* 91: 19-28
- VINA, S. 2000 Hair analysis by immunological methods from the beginning to 2000 *Forensic Science International* 107:249-259
- YASUHISA, S.; EIJI, K.; KEIICHI, T. 1997 A sandwich enzyme immunoassay for brain S-100 protein and its forensic application *Forensic Science International* 87: 145-154