

## Determinación de la Hormona Gonadotropina Coriónica Humana en Manchas Secas de Sangre para la Aplicación en la Escena del Delito

José A. Meléndez-Curasi<sup>1</sup>

Tipo de artículo: Artículo de investigación  
Recibido: 16 de julio de 2024. Aprobado: 11 de noviembre de 2024

DOI: 10.53995/25390147.1805

### Resumen

La criminología enfrenta numerosos casos de delitos contra mujeres gestantes, donde las manchas de sangre son evidencia común en las escenas del crimen. Este estudio se propuso investigar la persistencia de la hormona gonadotropina coriónica humana (hCG) en manchas de sangre seca de mujeres embarazadas, simulando condiciones de una escena del crimen. Para ello trabajó un método de tipo aplicada, el cual cuenta con un enfoque cuantitativo, de diseño experimental comparativo.

<sup>1</sup> Maestría en Criminalística y Derechos Humanos. Fiscal provincial titular del Ministerio Público. Maestro en criminalística, Universidad Norbert Wiener, Perú y/o Maestro en Derechos Humanos y Sistemas de Protección, Universidad Internacional de la Rioja, España. operaciones.artinova@gmail.com. ORCID:0000-0001-7417-9742

Como muestra se obtuvo una totalidad de 143 mujeres embarazadas; sin embargo, aplicando los criterios de exclusión y teniendo en cuenta que muchas de ellas no desearon ser parte de la investigación, se trabajó con 22 muestras, y, adicionalmente, se incluyeron ocho mujeres no embarazadas, quedando como muestra total 30 mujeres embarazadas y no embarazadas. Los materiales utilizados fueron un detector cualitativo de hormonas, a saber, el kit de inmunocromatografía On Site hCG Combo Rapid Test de CTK, y para obtener datos cuantitativos de hormonas se utilizó un equipo denominado lector de Elisa Stat Fax 4200, que utiliza reactivos específicos utilizados y validados en la práctica clínica. Se tuvo como resultados que, el 100% de las manchas de sangre analizadas dieron positivo para hCG. Esto demuestra que la hormona se mantiene detectable en manchas de sangre seca durante un período prolongado, preservando su integridad estructural. Aunque se observaron algunas diferencias en la determinación hormonal entre los métodos cualitativo y cuantitativo, ambas técnicas mostraron una sensibilidad y especificidad del 100% en las muestras analizadas. En conclusión, estos hallazgos son de gran relevancia para el campo forense, sugiriendo la viabilidad de implementar pruebas de hCG como parte estándar de los análisis en investigaciones criminales.

**Palabras clave**

hCG, criminalística, inmunocromatografía, ELISA, manchas de sangre.

## **Determination of Human Chorionic Gonadotropin Hormone in Dried Blood Spots for Application at Crime Scenes**

### **Abstract**

Criminology faces numerous cases of crimes against pregnant women, where bloodstains are common evidence at crime scenes. This study aimed to investigate the persistence of human chorionic gonadotropin (hCG) hormone in dried blood stains of pregnant women,

simulating crime scene conditions. For this purpose, an applied method was used, which has a quantitative approach, with a comparative experimental design. A total of 143 pregnant women were obtained as a sample; however, applying the exclusion criteria and taking into account that many of them did not wish to be part of the research, 22 samples were used, and, additionally, eight non-pregnant women were included, leaving a total sample of 30 pregnant and non-pregnant women. The materials used were a qualitative hormone detector, namely the CTK On Site hCG Combo Rapid Test immunochromatography kit, and to obtain quantitative hormone data, a Stat Fax 4200 Elisa reader was used, which uses specific reagents used and validated in clinical practice. The results showed that 100% of the blood spots analyzed were positive for hCG. This demonstrates that the hormone remains detectable in dried blood spots over a prolonged period, preserving its structural integrity. Although some differences in hormone determination were observed between the qualitative and quantitative methods, both techniques showed 100% sensitivity and specificity in the samples tested. In conclusion, these findings are of great relevance to the forensic field, suggesting the feasibility of implementing hCG testing as a standard part of the analysis in criminal investigations.

#### Keywords

hCG, criminalistics, immunochromatography, ELISA, bloodstains.

## Determinação do Hormônio Gonadotrofina Coriônica Humano em Manchas Secas de Sangue para Aplicação na Cena do Crime

### Resumo

A criminologia frequentemente enfrenta casos de crimes contra mulheres gestantes, onde manchas de sangue são evidências comuns em cenas de crime. Este estudo investigou a persistência do hormônio gonadotrofina coriônica humano (hCG) em manchas de sangue seco

de mujeres grávidas, simulando condiciones de una cena do crime. Foi utilizado um método de tipo aplicado, com enfoque quantitativo e design experimental comparativo. A amostra inicial incluiu 143 mulheres grávidas; no entanto, após a aplicação de critérios de exclusão e a recusa de algumas participantes, trabalhou-se com 22 amostras, além de oito mulheres não grávidas, totalizando 30 participantes. Os materiais utilizados incluíram um kit de imunocromatografia qualitativa On Site hCG Combo Rapid Test da CTK e um leitor de ELISA Stat Fax 4200, que utiliza reagentes específicos validados na prática clínica para determinação quantitativa de hCG. Os resultados mostraram que 100% das manchas de sangue analisadas deram positivo para hCG, demonstrando que o hormônio permanece detectável em manchas de sangue seco por um período prolongado, preservando sua integridade estrutural. Embora diferenças tenham sido observadas entre os métodos qualitativo e quantitativo, ambas as técnicas apresentaram sensibilidade e especificidade de 100%. Esses achados são altamente relevantes para o campo forense, sugerindo a viabilidade de implementar testes de hCG como parte padrão das análises em investigações criminais.

#### Palavras-chave

hCG, criminalística, imunocromatografia, ELISA, manchas de sangue.

## Introducción

La hormona gonadotropina coriónica humana (hCG), se produce generalmente en las primeras etapas del embarazo, y adquiere gran importancia en el ámbito forense como indicador debido que permite identificar fluidos biológicos en escenarios criminales, especialmente en situaciones de comisión de delitos sexuales. Esta hormona cumple dos funciones cruciales, donde su papel principal es preservar el cuerpo lúteo durante la gestación, además, regula factores tróficos y promueve la producción de otra hormona esencial para el desarrollo embrionario (Velásquez *et al.*, 2013). Posteriormente, al poco tiempo de que el embrión se implanta en el útero, los niveles de hCG comienzan

a elevarse tanto en el torrente sanguíneo como en la orina de la mujer. Esta característica hace que la hCG sea un indicador clave en las pruebas de detección de embarazo, permitiendo un diagnóstico temprano y confiable (Melchor *et al.*, 2019) el UMELISA HCG, producido por el Centro de Inmunoensayo, detecta la presencia de gonadotropina coriónica humana. Con el objetivo de purificar y caracterizar gonadotropina coriónica humana (hCG).

Asimismo, la detección de la hCG en la sangre se puede realizar mediante el análisis cualitativo, donde se confirma la presencia o ausencia de hCG en la muestra de sangre y el análisis cuantitativo para medir la cantidad específica de hCG que existe en la sangre. Además, el análisis cualitativo de hCG en la sangre es una prueba que verifica si esta hormona está presente o no en el torrente sanguíneo. Es importante recordar que la hCG es una hormona que el cuerpo produce de manera natural durante el embarazo, lo que hace que su detección sea un indicador confiable de gestación (MedlinePlus, 2022).

Por lo tanto, las pruebas cualitativas de gonadotropina coriónica humana beta ( $\beta$ -hCG) empleadas en laboratorios clínicos son análogas en principio a las pruebas de embarazo disponibles en farmacias para uso doméstico. Mientras que las pruebas de venta libre utilizan orina como muestra, los laboratorios clínicos realizan el análisis en muestras de suero sanguíneo, lo cual permite la detección de  $\beta$ -hCG en sangre. Debido a su naturaleza rutinaria, está disponible en la mayoría de los laboratorios clínicos, lo que facilita su acceso en prácticamente cualquier centro urbano (Ruiz, 2023).

La determinación de la hCG en manchas secas de sangre representa un avance significativo en la investigación forense, especialmente en casos de delitos contra mujeres embarazadas. Esta técnica innovadora ofrece múltiples ventajas para la criminología y la administración de justicia. En primer lugar, permite la rápida identificación de sangre proveniente de mujeres gestantes, lo cual es crucial en investigaciones de homicidios, desapariciones o agresiones (Quispe y Flores, 2014). Además, dado que los niveles de hCG fluctúan a lo largo del embarazo, su cuantificación puede proporcionar información valiosa sobre el tiempo de gestación de la víctima, un dato potencialmente relevante para diversas líneas de investigación. Una ventaja adicional de esta

metodología es la estabilidad y facilidad de almacenamiento de las manchas secas de sangre en comparación con las muestras líquidas, lo que garantiza una preservación más efectiva de la evidencia a largo plazo (Cowans et al., 2013). Esto es particularmente importante en casos complejos o de larga duración.

La detección de hCG en muestras de sangre también puede ser determinante para corroborar o refutar testimonios sobre el estado de embarazo de una víctima, un aspecto frecuentemente crucial en investigaciones criminales. Esta capacidad hace que la técnica sea especialmente útil en la investigación de delitos como feminicidios, abortos forzados, trata de personas con fines de explotación sexual y otros crímenes que afectan de manera desproporcionada a mujeres embarazadas. Desde el punto de vista de la reconstrucción de los hechos, la detección de hCG en diferentes ubicaciones de la escena del crimen puede ayudar a trazar los movimientos de la víctima y establecer la secuencia de eventos. Esto proporciona a los investigadores una herramienta adicional para comprender la dinámica del delito. A nivel macro, los datos obtenidos mediante esta técnica pueden contribuir a la generación de estadísticas más precisas sobre crímenes contra mujeres embarazadas. Esta información es fundamental para informar y orientar políticas públicas de prevención y protección más efectivas.

Además, en escenarios criminales, las manchas de sangre son evidencias clave frecuentemente encontradas. Por lo que, la sangre, es el indicio biológico más común en estos contextos, y es fundamental en la hematología forense. Ante ello, se pueden analizar las manchas de sangre utilizando métodos bioquímicos, serológicos y genéticos para obtener información crucial sobre el incidente, contribuyendo significativamente a la resolución de casos criminales (Guinudinik, 2019).

Por lo tanto, es posible detectar y cuantificar la hCG en manchas de sangre seca halladas en una escena del crimen, particularmente si estas provienen de mujeres embarazadas. Esta información puede ser crucial en investigaciones forenses, ya que permite identificar posibles ubicaciones donde las víctimas estuvieron presentes, además de proporcionar datos sobre el estado reproductivo de las víctimas al momento del suceso. Estos hallazgos pueden aportar valiosas pistas

para reconstruir los eventos y comprender mejor las circunstancias del incidente (Defensoría del Pueblo, 2020).

Por otro lado, se pueden obtener también pruebas cuantitativas de hCG, que son capaces de medir los niveles muy bajos en mIU/ml, el cual son ideales para la detección temprana y el seguimiento de embarazos, especialmente en casos de alto riesgo. La característica de la hCG es duplicar su concentración cada 48 horas en embarazos saludables permitiendo evaluar el progreso de la gestación mediante pruebas repetidas, ofreciendo a los profesionales de la salud una herramienta valiosa para interpretar resultados en el contexto de la etapa gestacional y proporcionar un diagnóstico más confiable y un seguimiento más efectivo del embarazo (Manterola *et al.*, 2019; Ruiz, 2023; Frade y Amorín, 2022).

En el campo de la criminalística, la investigación específica sobre ciertos analitos en manchas de sangre seca es limitada. Sin embargo, las manchas de sangre seca encontradas en escenas del crimen proporcionan una rica fuente de información, pero no se aprovechan estas evidencias para resolver adecuadamente un caso, por ende, a partir de estas muestras, los investigadores pueden reconstruir el grupo sanguíneo del sistema ABO, cuantificar la hemoglobina humana y realizar pruebas de ADN. La exploración de estos diversos componentes sanguíneos podría abrir nuevas vías de investigación forense, mejorando la capacidad para reconstruir eventos, identificar individuos y comprender las circunstancias de un crimen.

En este contexto, este estudio tiene como objetivo investigar la persistencia del hormônio gonadotropina coriônica humana (hCG) en manchas de sangre seco de gestantes, simulando condições de cena de crime. Esta investigación al lograr detectar la hormona hCG en muestras de sangre seca, tiene aplicaciones significativas en el ámbito forense, debido que permite tener mayores herramientas para resolver casos de crímenes violentos de mujeres que se dan en gran número en la sociedad. Todo esto porque en la actualidad no se viene aplicando un método que permita distinguir o individualizar una mancha de sangre seca de una mujer embarazada en una escena de crimen. En el caso hipotético que se llegue a tener indicios de que en un determinado lugar se desarrolló un crimen de

una mujer embarazada, la investigación puede contribuir al campo forense al establecer no solo que en la escena pueda existir manchas de sangre con la ayuda de luminol, además de ello así la mancha de sangre se encuentre seca, por el transcurrir del tiempo, se podrá establecer que la muestra corresponde a una mujer embarazada dado que es posible verificar la hormona gonadotropina coriónica humana (hcg). Sin embargo, este tema presenta limitaciones, principalmente la escasez de literatura previa que aborde el tema en profundidad y la falta de estudios comparables que pudieran corroborar los hallazgos. Estas limitaciones dificultaron la obtención de un respaldo bibliográfico más amplio para la investigación.

## Técnicas y Procedimientos Metodológicos

El presente estudio es una investigación aplicada debido a que busca generar soluciones a un problema específico (García y Sánchez, 2020), en este caso, en el ámbito forense. Su propósito es mejorar el proceso de investigación en la escena del crimen mediante la determinación de la hCG en manchas secas de sangre. Esta aplicación tiene potencial para verificar delitos como el aborto ilegal o casos de mujeres embarazadas asesinadas.

Es de diseño experimental comparativo porque se han aplicado dos métodos diferentes (inmunocromatografía y ELISA) bajo condiciones controladas para detectar la presencia de hCG en muestras secas de sangre. Este diseño permite comparar la eficacia de ambas técnicas en el contexto forense. Además, es de enfoque cuantitativo, ya que recopila y analiza datos numéricos siguiendo un proceso organizado y sistemático (Hernández *et al.*, 2018). Detecta y cuantifica de hCG en muestras secas de sangre. Se usó el método hipotético-deductivo, ya que parte de una hipótesis sobre la posibilidad de detectar hCG en manchas secas de sangre y se procede a su verificación experimental.

La metodología se estructura de la siguiente manera para reflejar el diseño experimental comparativo: Se obtuvieron muestras de sangre de mujeres embarazadas y no embarazadas (grupo control) y se preparan manchas secas en condiciones controladas. Se aplicaron método de



detección, método inmunocromatográfico y método ELISA. Se registran los resultados de ambos métodos, incluyendo sensibilidad, especificidad y límites de detección, finalmente, se compararon estadísticamente los resultados obtenidos por ambos métodos para determinar su eficacia relativa en la detección de hCG en manchas secas de sangre.

En cuanto a la población de estudio, fue definida como el conjunto de mujeres embarazadas que acuden al Hospital Ricardo Cruzado Rivarola del Distrito Fiscal de Ica, Perú. Esta población se caracteriza por mujeres mayores de 18 años, entre 7 y 40 semanas de embarazo, nivel socioeconómico medio, pobre y extrema pobreza, atendidas en el Hospital Ricardo Cruzado Rivarola durante el período de estudio.

La población fuente consistió en 228 mujeres embarazadas que cumplían con estas características y acudieron al hospital durante el período de recolección de datos. Los criterios de inclusión fueron: mujeres en periodo gestacional mayores de 18 años, que oscilan entre 7 y 40 semanas, asimismo, aquellas que decidieron participar voluntariamente en la investigación, brindando su consentimiento informado. Mientras que, los criterios de exclusión fueron: mujeres menores de 18 años, mujeres no embarazadas (excepto para el grupo control), y quienes no otorgaron su consentimiento para participar en la investigación, además de pacientes con condiciones médicas que pudieran afectar los niveles de hCG.

El tamaño de muestra inicial se calculó utilizando la siguiente fórmula para poblaciones finitas:  $n = N * Z^2 * p * q / (e^2 * (N - 1) + Z^2 * p * q)$ , donde: N = 228 (tamaño de la población), Z = 1,96 (nivel de confianza del 95%), p = 0,5 (proporción esperada), q = 1 - p = 0,5 y e = 0,05 (precisión). Este cálculo resultó en un tamaño de muestra inicial de 143 mujeres embarazadas.

La reducción significativa de la muestra final se debió a la aplicación estricta de los criterios de inclusión y exclusión, por tanto, de las 143 mujeres inicialmente seleccionadas, 121 no cumplieron con los criterios establecidos y algunas decidieron no participar en el estudio. Apenas 22 mujeres embarazadas dieron su consentimiento voluntario para participar en la investigación después de ser informadas detalladamente sobre los procedimientos y objetivos del estudio.

La muestra final del estudio quedó conformada por 22 mujeres embarazadas y 8 mujeres no embarazadas como grupo control, totalizando 30 mujeres.

Esta reducción en el tamaño de la muestra, aunque significativa, se consideró aceptable dado que el estudio es de naturaleza experimental y comparativa, donde la calidad y la especificidad de las muestras son más relevantes que la cantidad. Además, la inclusión de un grupo control de mujeres no embarazadas fortalece el diseño experimental, permitiendo una comparación más robusta de los resultados. Es importante señalar que, aunque la muestra final es menor que la calculada inicialmente, sigue siendo suficiente para demostrar la viabilidad del método propuesto y proporcionar datos preliminares valiosos para futuras investigaciones en este campo.

El procedimiento de la toma de la muestra fue: Llenado y firma del consentimiento informado, indicación de la fecha de último día de regla (FUR), rotular el tubo Vacutainer con anticoagulante EDTA, colocar código, el nombre de la embarazada y la fecha en el tubo, se tomó la muestra venosa en un tubo vacutainer con el anticoagulante EDTA, agitar bien el tubo, con la ayuda de una pipeta de transferencia esparcir 1 mililitro de sangre y hacer un mancha en un área de 9 centímetros cuadrados del soporte de Tela, en caso que no se pueda realizar la mancha en ese momento en el soporte, guardar la muestra en la refrigeradora 2 a 8 grados centígrados hasta por cinco días. Después de hacer las manchas en el soporte dejar que las muestras de sangre se sequen por unos tres días, luego se guardaron las manchas de sangre que están en su respectivo soporte, en un sobre de papel manila cada uno y se colocó en cada sobre el código de la muestra y el tipo de soporte tela.

Los materiales utilizados fueron un detector cualitativo de hormonas, a saber, el kit de inmunocromatografía On Site hCG Combo Rapid Test de CTK, que es el mismo instrumento utilizado y verificado en la práctica clínica. Asimismo, para obtener datos cuantitativos de hormonas se utilizó un equipo denominado lector de Elisa Stat Fax 4200, utiliza reactivos específicos utilizados y validados en la práctica clínica.

El proceso realizado en la primera etapa consistió en recolectar una muestra de sangre de la mujer embarazada, y colocar la muestra de sangre que contiene la hormona HCG en un tubo vacutainer que contiene el anticoagulante EDTA, además de obtener datos sobre la fecha del último período menstrual (FUR) para estimar la etapa del embarazo. Asimismo, la segunda etapa consistió en colocar 1,0 ml de sangre materna en un área de 4 cm cuadrados sobre un soporte de tela de algodón y se dejó secar durante 3 meses, mancha de sangre sobre un soporte de tela de algodón del cual se recuperó la hormona mediante métodos cualitativos y cuantitativos. Este procedimiento simula las condiciones que podrían encontrarse en una escena de investigación forense, permitiendo evaluar la eficacia de los métodos de detección en circunstancias similares a las de un caso real.

El análisis final se centró en la detección de gonadotropina coriónica humana (hCG) en muestras de sangre seca obtenidas de mujeres embarazadas. Se comparó la sensibilidad y especificidad de los métodos inmunocromatográfico y ELISA para determinar posibles diferencias en su eficacia. El análisis estadístico se realizó utilizando SPSS versión 27. La prueba de normalidad reveló que los datos no seguían una distribución normal, por lo que se optó por la prueba no paramétrica de Rho de Spearman para evaluar la correlación entre los resultados de ambos métodos.

Para la contrastación de hipótesis del estudio, en primer momento fue necesario desarrollar la normalidad y semejanza de varianzas; para el análisis de la normalidad de los datos obtenidos, para la prueba se utilizó la prueba de normalidad de Shapiro Wilk.

## Resultados de la detección cualitativa y cuantitativa de hCG

El estudio incluyó muestras de sangre de 22 gestantes y ocho no gestantes, estas últimas sirviendo como controles negativos. Es importante destacar que este método inmunocromatográfico proporciona una evaluación rápida y visual de la presencia de hCG, lo que lo hace particularmente útil en contextos donde se requiere una detección preliminar eficiente. La consistencia en los resultados positivos

para las muestras de mujeres embarazadas subraya la fiabilidad del método para esta aplicación específica.

Por lo tanto, para mayor claridad en el anexo 4, se encuentra detallado la etapa gestacional de las participantes en semanas de embarazo.

La detección cualitativa de hCG en manchas de sangre, empleando el método inmunocromatográfico (CTK) revela la presencia de la hormona mediante la aparición de una coloración azul o morada en la línea de detección, indicando un resultado positivo. La intensidad de la coloración se clasifica utilizando un sistema de cruces (1+, 2+, 3+). Esta gradación de color no solo confirma la presencia de la hormona en las muestras de sangre, sino que también proporciona una indicación aproximada de su concentración.

Luego del procesamiento de las muestras, el análisis reveló que el kit inmunocromatográfico On Site hCG Combo Rapid Test de CTK existe una precisión del 100% en la detección del embarazo. Todas las muestras sanguíneas de las 22 mujeres gestantes arrojaron resultados positivos, mientras que las ocho muestras provenientes de mujeres no embarazadas resultaron negativas. Es destacable que la prueba no produjo ningún falso positivo ni falso negativo al emplear el método cualitativo del kit mencionado.

Para los controles positivos, se utilizó hCG proporcionada por el fabricante a una concentración de 50mUI/mL, así como diluciones a 25 y 12,5mUI/mL. Los resultados se cuantificó la hormona presente en las muestras de sangre seca diluidas en 1mL.

Asimismo, el estudio demostró que la hCG estaba presente en todas las muestras de sangre seca provenientes de gestantes. En contraste, las muestras de mujeres no gestantes arrojaron resultados similares al control negativo incluido en el kit, lo que confirma la especificidad del método. En total, se analizaron 30 muestras de sangre seca: 22 gestantes y ocho no gestantes. En todas estas muestras el reactivo demostró la eficacia y precisión del método en la detección y cuantificación de hCG en muestras de sangre seca.

La detección cuantitativa de hCG en manchas de sangre se realizó utilizando el reactivo comercial BETA ACU-COLOR™ de Cal-Tech Diagnostics (CDI), con una sensibilidad de 12,5mUI hCG/mL, y la muestra

se leyó en un dispositivo de lectura Elisa Stat Fax 4200, longitud de onda 450nm; los controles positivos se realizaron utilizando hCG del fabricante a 50mUI/mL y tres diluciones a concentraciones de 25 y 12,5mUI/mL. Para ello, se utilizó 22 gotas de sangre materna y 8 gotas de sangre de no embarazadas, y ambos tipos de muestras se analizaron utilizando reactivos BETA ACU-COLOR™ de Cal-Tech Diagnostics.

Los datos obtenidos cuantificaron las hormonas presentes en las tinciones secas diluidas en 1ml de sangre. Además, la hormona hCG estuvo presente en todas las tinciones secas de mujeres embarazadas que proporcionaron muestras, y en mujeres no embarazadas las tinciones de sangre fueron similares al control negativo proporcionado con el kit, lo que le dio al kit su especificidad.

De acuerdo a los resultados obtenidos, las 22 muestras de sangre de mujeres embarazadas fueron positivas y 8 muestras de mujeres no embarazadas fueron negativas, el método cuantitativo utilizado no mostró falsos positivos ni falsos negativos, por lo que la especificidad y sensibilidad fueron del 100%, utilizando el reactivo BETA ACU-COLOR™ de Cal-Tech Diag. Por ello, la presencia de la hormona hCG se detectó cuantitativamente en todas las gotas de sangre de mujeres con más de siete semanas de embarazo; la concentración más baja de la muestra diluida en 1ml de solución salina normal fue de 8mUI, y la concentración más alta en los ml de solución salina a partir de los cuales se extrajo se recuperó la muestra (absorbancia 0,5570) La concentración es de 111 mUI (absorbancia 2,117); las muestras con absorbancia superior a 0,30 se consideran muestras positivas para hCG. Además, la sensibilidad y especificidad del reactivo cuantitativo BETA ACU-COLOR™ de Cal-Tech Diagnostics (CDI), se pueden determinar independientemente de la concentración de hormona detectada en cada gota de sangre seca.

Asimismo, la presencia de la hormona hCG se detectó tanto cualitativa como cuantitativamente en todas las muestras de sangre de mujeres de entre 7 y 40 semanas de embarazo. Se observaron reacciones tanto débiles como fuertes en el kit de prueba cualitativa, pero todas se interpretaron como positivas; independientemente de la intensidad de la reacción de la muestra de prueba, la sensibilidad y especificidad del kit de prueba cualitativa rápida OnSite hCG Combo Rápida Test de CTK Biotech.

Referente a la demostración de hipótesis, usando la prueba de Rho de Spearman, se encontró que, no existen diferencias en la determinación de gonadotropina coriónica humana en tinciones secas mediante un método inmunocromatográfico cualitativo y un método ELISA cuantitativo. Es decir, que existe una permanencia alta de la gonadotropina coriónica humana permanece en la sangre seca de una mujer embarazada en la escena del crimen por lo que, se acepta la hipótesis alterna y se rechaza la hipótesis nula, al confirmarse que si existe la presencia de la hCG en manchas de sangre en la escena del delito.

## **Análisis y Discusión de los Resultados**

En este caso, no se compararon resultados con antecedentes porque no existían estudios previos relacionados con las variables de estudio y porque se consideró el tema poco investigado.

La gonadotropina coriónica humana en manchas de sangre seca de mujeres embarazadas se puede determinar cualitativa y cuantitativamente y es adecuada para investigaciones forenses cuando se sospecha que la sangre encontrada en el lugar de los hechos proviene de una mujer embarazada.

De igual manera, la hormona gonadotropina coriónica humana (hCG) está presente en el cuerpo de las mujeres embarazadas. Se estima que los niveles de esta hormona en sangre aumentan de 5UI/mL a 12,5 UI/mL durante la primera semana de embarazo. Además, los reactivos comerciales están diseñados y validados para detectar estos niveles de la hormona. Estos resultados guardan relación en parte con el estudio de Cowans *et al.* (2013) quienes demostraron la viabilidad del análisis de manchas de sangre seca (DBS) para la detección de marcadores de embarazo como PAPP-A y free-hCG  $\beta$ 1. Aunque su enfoque se centró en el cribado prenatal, sus hallazgos sobre la estabilidad de estos marcadores en muestras secas son relevantes para nuestro estudio. La observación de que el aumento de temperatura y humedad relativa durante el proceso de secado resultó en un aumento de free-hCG  $\beta$

sugiere que las condiciones ambientales pueden influir en la detección de hCG en manchas de sangre seca, un factor que debe considerarse en futuras investigaciones forenses.

Del mismo modo, se condice con lo mencionado por Kayser (2009) identificaron el mRNA de lactógeno placentario humano (hPL) como un biomarcador ideal para el diagnóstico molecular del embarazo en contextos forenses. Su hallazgo de que el mRNA de hPL es detectable en manchas de sangre seca hasta 56 días después de su exposición a temperatura ambiente complementa nuestros resultados sobre la persistencia de hCG en muestras antiguas. Esto sugiere que la combinación de marcadores como hCG y hPL podría proporcionar un enfoque más robusto para la determinación del embarazo en muestras forenses.

Nuestros hallazgos se alinean con los de Shabbir *et al.* (2022), quienes utilizaron un inmunoensayo enzimático para detectar hCG en manchas de sangre de mujeres embarazadas. Su éxito en la detección de hCG en muestras de hasta 6 meses de antigüedad corrobora nuestra observación de la estabilidad de hCG en manchas de sangre seca a lo largo del tiempo. La alta sensibilidad reportada es comparable a la que hemos observado en nuestro estudio, lo que refuerza la idoneidad de esta técnica para aplicaciones forenses. A diferencia de los métodos de detección de sangre como el Luminol, descrito por Quispe y Flores (2014), nuestra técnica ofrece información específica sobre el estado de embarazo. Mientras que el Luminol es útil para la detección general de sangre, incluso en muestras antiguas o diluidas, nuestro método proporciona información adicional crucial en casos donde el estado de embarazo de la víctima es relevante para la investigación.

Los resultados de este estudio demuestran la estabilidad de la gonadotropina coriónica humana en manchas de sangre, sin embargo, se realizó una búsqueda en la literatura, pero no se encontró estudios similares, pero sí crímenes contra mujeres embarazadas, masacres y asesinatos. Sin embargo, hay una gran cantidad de casos como abortos involuntarios en cada escena del crimen, el fluido biológico más común es la sangre.

Por ello, los reactivos utilizados para la determinación de hCG han sido validados para el diagnóstico clínico en muestras de sangre

sin hemólisis, por lo que se cree que el exceso de hemoglobina libre producida al diluir el tinte seco puede interferir con los resultados, es decir, por esta razón se utilizaron métodos cuantitativos en la misma muestra.

Los resultados obtenidos fueron determinantes, confirmando la presencia de hemoglobina libre. La hemoglobina no afecta la determinación cualitativa y cuantitativa de hormonas.

Las implicancias prácticas que genera el presente estudio es que la investigación de hCG en las manchas de sangre de mujeres embarazadas deben realizarse en laboratorios forenses, esto influirá para la resolución de crímenes contra mujeres gestantes, porque va a servir como herramienta de investigación fiscal en la etapa preparatoria.

## Conclusiones

Los resultados de este estudio demuestran la eficacia de los métodos cualitativo y cuantitativo en la determinación de gonadotropina coriónica humana (hCG) en manchas de sangre secas de mujeres embarazadas. Ambos métodos alcanzaron una sensibilidad y especificidad del 100%, sin diferencias significativas entre ellos, mostrando las nuevas posibilidades para la aplicación práctica en diversos campos, como la medicina forense, la atención médica en zonas remotas y los estudios epidemiológicos.

En la práctica, esta técnica podría revolucionar la detección de embarazos en situaciones donde las pruebas convencionales son difíciles de realizar, como, por ejemplo, en investigaciones forenses donde la capacidad de detectar hCG en manchas de sangre secas podría proporcionar información crucial sobre el estado de embarazo de una víctima. En áreas de difícil acceso, esta metodología podría facilitar el diagnóstico temprano de embarazos sin necesidad de infraestructura compleja, mejorando así la atención prenatal en comunidades remotas.

Las futuras investigaciones deberían enfocarse en validar estos resultados en muestras más grandes y diversas, explorando la estabilidad de la hCG en manchas de sangre secas bajo diferentes condiciones ambientales y a lo largo del tiempo. Sería valioso investigar la posibilidad



de detectar otros biomarcadores en manchas de sangre secas utilizando métodos similares, lo que podría ampliar significativamente el alcance de esta técnica.

Asimismo, es crucial desarrollar protocolos estandarizados para la recolección y análisis de manchas de sangre secas en diversos contextos clínicos y forenses. Esto facilitaría la implementación generalizada de esta metodología y garantizaría la consistencia de los resultados en diferentes entornos.

## Referencias

- Arias, y Covinos, M. (2021). *Diseño y metodología de la investigación*. [https://www.researchgate.net/publication/352157132\\_diseño\\_y\\_metodología\\_de\\_la\\_investigación](https://www.researchgate.net/publication/352157132_diseño_y_metodología_de_la_investigación)
- Cowans, N., Suonpaa, M., Kouru, H., Wright, D., & Spencer, K. (2013). Evaluation of a dried blood spot assay to measure prenatal screening markers pregnancy-associated plasma protein A and free  $\beta$ -subunit of human chorionic gonadotropin. *Clinical Chemistry*, 59(6), 968-975. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2012.194894>
- Defensoría del Pueblo. (2020). *Violencia obstétrica en el Perú* (N°023-2020-DP/ADM). <https://www.defensoria.gob.pe/wp-content/uploads/2020/12/Violencia-obst%C3%A9trica.pdf>
- Frade, M., y Amorín, P. (2023). *Beta HCG cuantitativa y cualitativa ¿Cuál es la diferencia?* *Famivita*. <https://www.famivita.com.br/conteudo/es/prueba-de-embarazo-beta-cuantitativa-y-cualitativa-cuales-la-diferencia/>
- García, J., y Sánchez, P. (2020). Diseño teórico de la investigación: Instrucciones metodológicas para el desarrollo de propuestas y proyectos de investigación científica. *Información tecnológica*, 31(6): 159-170. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642020000600159>

- Guinudinik, A. (2019). Una visión general de los indicios biológicos. En M. R. Ayón (Ed.), *Biología forense* (pp. 11-33). Fundación Miguel Lillo. <https://www.lillo.org.ar/revis/opera-lilloana/2019-ol-v54.pdf>
- Hernández, O. (2021). Aproximación a los distintos tipos de muestreo no probabilístico que existen. *Revista Cubana de Medicina General Integral*, 37(3): e1442. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-21252021000300002](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21252021000300002)
- Hernandez-Sampieri, R., y Mendoza-Torres, C. (2018). *Metodología de la investigación. Las rutas cuantitativas, cualitativas y mixtas*. McGraw Hill. <https://virtual.cuautitlan.unam.mx/rudics/?p=2612>
- Kayser, M. (2009). Forensic pregnancy testing: a special case in molecular diagnostics. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 9(2), 105-107. <https://doi.org/10.1586/14737159.9.2.105>
- Manterola, C., Quiroz, G., Salazar, P., y García, N. (2019). Metodología de los tipos y diseños de estudio más frecuentemente utilizados en investigación clínica. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 30(1), 36-49. <https://doi.org/10.1016/j.rmcl.2018.11.005>
- MedlinePlus. (2022). *Prueba de GCH cuantitativa en sangre: MedlinePlus enciclopedia médica*. <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/003510.htm>
- Melchor, A., Zúñiga, Y., Zulueta, O., Hernández, L., y López, R. (2019). Purificación y caracterización de gonadotropina coriónica humana para uso diagnóstico. *Revista Cubana de Química*, 31(2), 224-245. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2224-54212019000200224](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-54212019000200224)
- Meléndez, J. (2023). *Determinación de la hormona gonadotropina coriónica humana en manchas secas de sangre para la aplicación en la escena del delito - Distrito Fiscal de Ica 2020-2021* [Tesis de maestría, Universidad Norbert Wiener]. Repositorio Institucional: [https://repositorio.uwienner.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13053/10028/T061\\_04430089\\_M.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.uwienner.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13053/10028/T061_04430089_M.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

- Melendo, D., Villalba, A., Belenguer, L., Canillo, R., Bernad, E., y González, A. (2021). Detección de la hormona gonadotropina coriónica humana (hcg) en el laboratorio de urgencias. *Revista Sanitaria de Investigación*. <https://revistasanitariadeinvestigacion.com/deteccion-de-la-hormona-gonadotropina-corionica-humana-hcg-en-el-laboratorio-de-urgencias/>
- Mondragón, L. (2009). Consentimiento informado: Una praxis dialógica para la investigación [Informed consent: A dialogic praxis for the research]. *Revista De Investigacion Clínica; Organo Del Hospital De Enfermedades De La Nutrición*, 61(1), 73-82. <https://www.medigraphic.com/pdfs/revinvcli/nn-2009/nn091i.pdf>
- Quispe, S., y Flores, A. (2014). Detección de manchas de sangre mediante la Prueba de Luminol en la investigación forense. *Revista Con-Ciencia*, 1(2), 81-90.
- Quispe, A., Pinto, D., Human, M., Bueno, G., y Valle-Campos, A. (2020). Metodologías cuantitativas: Cálculo del tamaño de muestra con STATA y R. *Revista del Cuerpo Médico Hospital Nacional Almanzor Aguinaga Asenjo*, 13(1), 78-83. <https://doi.org/10.35434/rcmhnaaa.2020.131.627>
- Ruiz, J. (2023). *Glosario de términos de uso frecuente en la investigación*. Universidad de Colima. [https://recursos.ucol.mx/tesis/glosario\\_terminos\\_investigacion.php?letter=M](https://recursos.ucol.mx/tesis/glosario_terminos_investigacion.php?letter=M)
- Ruiz, N. (2022). *Cuerpo lúteo: ¿Qué es y cuándo se forma?* Salud Savia. <https://www.saludsavia.com/contenidos-salud/articulos-especializados/cuerpo-luteo-que-es-y-cuando-se-forma>
- Sánchez, M., Fernández, M., y Díaz, J. (2021). Técnicas e instrumentos de recolección de información: Análisis y procesamiento realizado por el investigador cualitativo. *Revista Científica UISRAEL*, 8(1), 107-121. <https://doi.org/10.35290/rcui.v8n1.2021.400>
- Shabbir, S., Ali, N., Ahmad, I., Khurshid, A., Rao, M. F. S., Hussain, S., & Rizwan, M. (2024). Enzyme Immunoassay for the Detection of Human Chorionic Gonadotropin (HCG) and Placental MRNA Marker a Practical Technique for Forensic Pregnancy Identification in Bloodstains. *PJMHS*, 16(10), 904-906. <https://doi.org/10.53350/pjmhs221610804>

- Urrego, E., Solano, J., Muñoz, J., Valencia, J., Pérez, J., y Delgado, S. (2018). *Introducción del desarrollo científico en la investigación criminal*. <https://policia.edu.co/esinc/wp-content/uploads/2019/05/Introducci%C3%B3n-del-Desarrollo-Cient%C3%ADfico-en-la-Investigaci%C3%B3n-Criminal.pdf>
- Velásquez, N., Fernández, G., y Oberto, J. (2013). Placentación, hormona gonadotrópica coriónica y cáncer. *Revista de Obstetricia y Ginecología de Venezuela*, 73(1), 58-61. [https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0048-77322013000100008](https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0048-77322013000100008)
- Villasís, M., Márquez, H., Zurita, J., Miranda, M., y Escamilla, A. (2018). El protocolo de investigación VII. Validez y confiabilidad de las mediciones. *Revista Alergia México*, 65(4), 414-421. <https://doi.org/10.29262/ram.v65i4.560>

## Anexos

### Anexo 1: Consentimiento Informado

Título de la investigación: Determinación de la hormona gonadotropina coriónica humana en manchas secas de sangre para la aplicación en el campo forense - Distrito Fiscal de Ica 2020-2021.

Investigador: Meléndez Curasi, José Alejandro

Institución: Universidad Privada Norbert Wiener

Estamos invitando a usted a participar en un estudio de investigación titulado: *Determinación de la hormona gonadotropina coriónica humana en manchas secas de sangre para la aplicación en el campo forense - Distrito Fiscal de Ica 2020-2021*. Este es un estudio desarrollado por el investigador de la Universidad Privada Norbert Wiener (UPNW).

### I. Información

**Propósito del estudio:** El propósito de este estudio es: Determinar la presencia de la hormona gonadotropina coriónica humana en manchas secas de sangre de mujeres embarazadas, que quedan en la escena de un delito.

**Duración del estudio** (meses): 6 meses

**N° esperado de participantes:** 22 manchas

**Criterios de Inclusión y exclusión:**

**Criterios de inclusión:**

Ser mayores de edad.

Haber dado su consentimiento voluntario de participar en la investigación.

**Criterios de exclusión:**

No dar su consentimiento de participar en la investigación.

Menor de edad.

**Procedimientos del estudio:** Si Usted decide participar en este estudio se le realizará los siguientes procesos:

El instrumento puede demorar unos 10 minutos.

Los resultados se le entregarán a usted en forma individual y se almacenarán respetando la confidencialidad y su anonimato.

**Riesgos:** Su participación en el estudio no presenta riesgo alguno para usted, la información es estrictamente confidencial.

**Beneficios:** Usted se beneficiará del presente proyecto aportando a la comunidad académica y científica con información valiosa, que permitirá evidenciar el problema y formular recomendaciones para la solución que aqueja su campo de trabajo.

**Costos e incentivos:** Usted no pagará ningún costo monetario por su participación en la presente investigación. Así mismo, no recibirá ningún incentivo económico ni medicamentos a cambio de su participación.

**Confidencialidad:** Nosotros guardaremos la información recolectada con códigos para resguardar su identidad. Si los resultados de este estudio son publicados, no se mostrará ninguna información que permita su identificación. Los archivos no serán mostrados a ninguna persona ajena al equipo de estudio.

**Derechos del paciente:** La participación en el presente estudio es voluntaria. Si usted lo decide puede negarse a participar en el estudio o retirarse de éste en cualquier momento, sin que esto ocasione ninguna penalización o pérdida de los beneficios y derechos que tiene como individuo, como así tampoco modificaciones o restricciones al derecho a la atención médica.

**Preguntas/Contacto:** Puede comunicarse con el Investigador Principal:

Meléndez Curasi, José Alejandro

jalemec@hotmail.com

Así mismo puede comunicarse con el Comité de Ética que validó el presente estudio, Contacto del Comité de Ética: Dra. Yenny M. Bellido Fuentes, Presidenta del Comité de Ética de la Universidad Norbert Wiener, para la investigación de la Universidad Norbert Wiener,

**Email:** comité.etica@uwiener.edu.pe

## II. Declaración del Consentimiento

he leído la hoja de información del Formulario de Consentimiento Informado (FCI), y declaro haber recibido una explicación satisfactoria sobre los objetivos, procedimientos y finalidades del estudio. Se han respondido todas mis dudas y preguntas. Comprendo que mi decisión de participar es voluntaria y conozco mi derecho a retirar mi consentimiento en cualquier momento, sin que esto me perjudique de ninguna manera. Recibiré una copia firmada de este consentimiento.

\_\_\_\_\_

Firma de la persona donante de la muestra

\_\_\_\_\_

Firma de la persona que toma la muestra

## Anexo 2: Instrumento de Investigación: Ficha de Registro

Registro				
Nombre y apellidos				
Edad		Tiempo de gestación		
Cantidad de muestra de sangre				
Para la detección cualitativa	Tipo de kit	Kit inmunocromatográfico On Site hCG Combo Rapid Test de CTK		
	Cantidad de sangre colocada en la tela de algodón	1,0 ml		
	Periodo de secado	3 meses		
	Presencia de la hormona color azul o violeta	Si ( )	No ( )	
	Intensidad del color para mujeres embarazadas	1+ reacción positiva leve ( )	2+ reacción positiva ( )	3+ reacción positiva intensa ( )
	Intensidad del color para mujeres no embarazadas	Negativos ( )	Falsos positivos ( )	
Para la detección cuantitativa	Equipo lector	Elisa Stat Fax 4200		



## Anexo 3: Procedimiento de Toma de Muestra

Procedimientos de toma de muestra de mujeres embarazadas y realización de manchas de sangre en soportes, para la posterior recuperación y detección de la hormona del embarazo (hCG).

- a. Llenado y firma del consentimiento informado.
- b. No olvidar de poner en la fecha de último día de regla (FUR)
- c. Rotular el tubo Vacutainer con anticoagulante EDTA, colocar código, el nombre de la embarazada y la fecha en el tubo.
- d. Tomar la muestra venosa en un tubo vacutainer con el anticoagulante EDTA, agitar bien el tubo.
- e. Con la ayuda de una pipeta de transferencia esparcir 1 mililitro de sangre y hacer un mancha en un área de 9 centímetros cuadrados del soporte de Tela.
- f. En caso que no se pueda realizar la mancha en ese momento en el soporte, guardar la muestra en la refrigeradora 2 a 8 grados centígrados hasta por cinco días.
- g. Después de hacer las manchas en el soporte dejar que las muestras de sangre se sequen por unos tres días.
- h. Guardar las manchas de sangre que están en su respectivo soporte, en un sobre de papel manila cada uno.
- i. Colocar en cada sobre el código de la muestra y el tipo de soporte tela.

## Anexo 4: Datos de la Determinación de la hCG en las Manchas de Sangre

Datos de la determinación de la hCG en manchas de sangre por el método inmunocromatográfico utilizando como instrumento el kt On site HCG Combo de CTK. 1+, 2+ y 3+ (significa positivo) 0 (significa negativo).

Muestras (Códigos)	Semanas de embarazo	Primer análisis	Segundo análisis
M1	32	3+	3+
M2	37	1+	1+
M3	38	2+	2+
M4	38	3+	3+
M5	38	3+	3+
M6	38	3+	3+
M7	18	3+	3+
M8	38	3+	3+
M9	27	3+	3+
M10	7	3+	3+
M11	28	2+	2+
M12	7	3+	3+
M13	7	3+	3+
M14	38	3+	3+
M15	39	2+	2+
M16	37	3+	3+
M17	22	2+	2+
M18	13	3+	3+
M19	40	3+	3+
M20	19	1+	1+

<b>Muestras (Códigos)</b>	<b>Semanas de embarazo</b>	<b>Primer análisis</b>	<b>Segundo análisis</b>
M21	30	2+	2+
M22	36	2+	2+
Controles negativos			
MN1	0	Negativo	Negativo
MN2	0	Negativo	Negativo
MN3	0	Negativo	Negativo
MN4	0	Negativo	Negativo
MN5	0	Negativo	Negativo
MN6	0	Negativo	Negativo
MN7	0	Negativo	Negativo
MN8	0	Negativo	Negativo

1+ = Reacción positiva leve	
2+ = Reacción positiva	
3+ = Reacción positiva intensa	

MN: Muestras negativas (sangre de mujeres no embarazadas)

+ = Positivo (presencia) a la hCG, la intensidad de color en el kit se indica con cruces 1+, 2+, 3+

(0) = Negativo (ausencia) a la hCG.

## **Anexo 5: Datos de la Determinación Cuantitativa de la HCG en las Manchas de Sangre**

Datos de la determinación cuantitativa de la HCG en las manchas de sangre seca de mujeres embarazadas, utilizando el reactivo comercial BETA ACU-COLOR™ de Cal-Tech Diagnostics (CDI), muestra diluida en 1 mL de solución salina fisiológica.

<b>Controles positivos- Muestras y Controles negativos</b>	<b>Absorbancia Promedio</b>	<b>Concentración UI/ mL de la hCG de la muestra diluida en 1 mL de SSF</b>
Control negativo	0,0305	0
Control Positivo 50 IU/mL	1,409	51
Control Positivo 25 IU/mL	1,100	26
Control Positivo 12.5 IU/mL	0,925	12
Muestra 1	1,2830	41
Muestra 2	0,5570	8
Muestra 3	0,7305	10
Muestra 4	1,2585	39
Muestra 5	1,6670	71
Muestra 6	1,9500	93
Muestra 7	1,8535	86
Muestra 8	1,5075	58
Muestra 9	2,1275	107
Muestra 10	2,0950	105
Muestra 11	1,2140	35
Muestra 12	1,9160	90
Muestra 13	2,1780	111
Muestra 14	1,6970	73
Muestra 15	0,8625	12
Muestra 16	1,5590	62
Muestra 17	1,1900	33
Muestra 18	2,1070	106
Muestra 19	1,8140	82
Muestra 20	0,5870	8
Muestra 21	1,4455	53
Muestra 22	1,2610	39
Control negativo 1	0,0220	0
Control negativo 2	0,0145	0
Control negativo 3	0,0215	0

<b>Controles positivos- Muestras y Controles negativos</b>	<b>Absorbancia Promedio</b>	<b>Concentración UI/ mL de la hCG de la muestra diluida en 1 mL de SSF</b>
Control negativo 4	0,0410	0
Control negativo 5	0,0405	0
Control negativo 6	0,0215	0
Control negativo 7	0,0195	0
Control negativo 8	0,0150	0

## **Anexo 6: Procedimiento para la Determinación Cualitativa y Cuantitativa de la hCG**

El procedimiento para la determinación cualitativa de la hCG, en manchas secas de sangre de mujeres embarazadas fue el siguiente:

- a. Con la ayuda de un bisturí, recortar 1 cm cuadrado del soporte donde está la mancha de sangre.
- b. Colocar el recorte de la tela con la mancha de sangre en un tubo de vidrio que contenga 1 mililitro de solución salina fisiológica.
- c. Dejar reposar la tela con el soporte por 30 minutos, luego de este tiempo, y, empleando el mango de un hisopo realizar movimientos de la tela en la solución, repetir estos movimientos unas cuatro veces, o hasta que la sangre se haya desprendido de la tela.
- d. Con la ayuda de un mango de hisopo, retirar la tela de la solución, presionado la tela por las paredes del tubo.
- e. Con una pipeta tomar 100 microlitros del sobrenadante y colocarlos en el posillo del kit inmunocromatográfico y dejar que el líquido discurra por la columna.

- f. Controlar el tiempo para realizar la lectura de los resultados, hasta los 15 minutos.
- g. Si está presente la hormona se formará una línea horizontal de color morado débil a intenso en la zona T (tamizaje) del kit
- h. En todos li kit debe marcar la línea C (control interno del kit), si esta línea no se marca invalidar cualquier resultado.
- i. Apuntar los resultados positivos con cruces (1+,2+,3,+) según la intensidad de reacción en la línea T.+

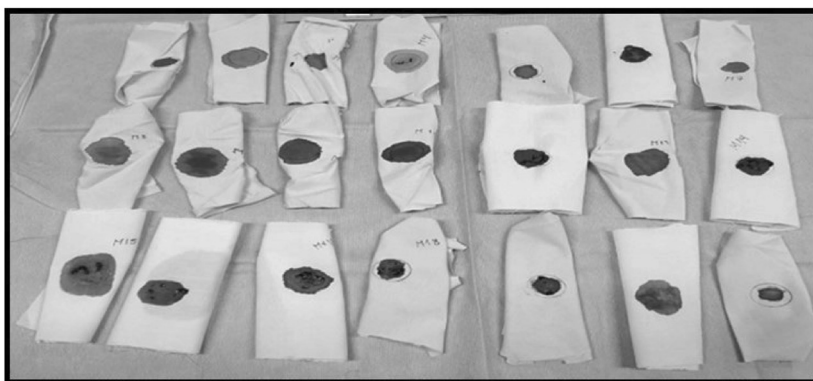
El procedimiento para la determinación cuantitativa de la hCG, en manchas secas de sangre de mujeres embarazadas fue el siguiente:

- a. Con la ayuda de un bisturí, recortar 1 cm cuadrado del soporte donde está la mancha de sangre.
- b. Colocar el recorte de la tela con la mancha de sangre en un tubo de vidrio que contenga 1 mililitro de solución salina fisiológica.
- c. Dejar reposar la tela con el soporte por 30 minutos, luego de este tiempo, y, empleando el mango de un hisopo realizar movimientos de la tela en la solución, repetir estos movimientos unas cuatro veces, o hasta que la sangre se haya desprendido de la tela.
- d. Con la ayuda de un mango de hisopo, retirar la tela de la solución, presionado la tela por las paredes del tubo.
- e. Dispensar 100 microlitros de la muestra en pozo de la paca de pruebas.
- f. Adicionar una gota de la enzima conjugada en el pozo de prueba.
- g. Incubar tres minutos a temperatura ambiente.
- h. Remover el contenido sacudiendo hacia abajo el soporte de microposillos en el lavadero, enjuagar los posillos cinco veces utilizando agua destilada o agua corriente.

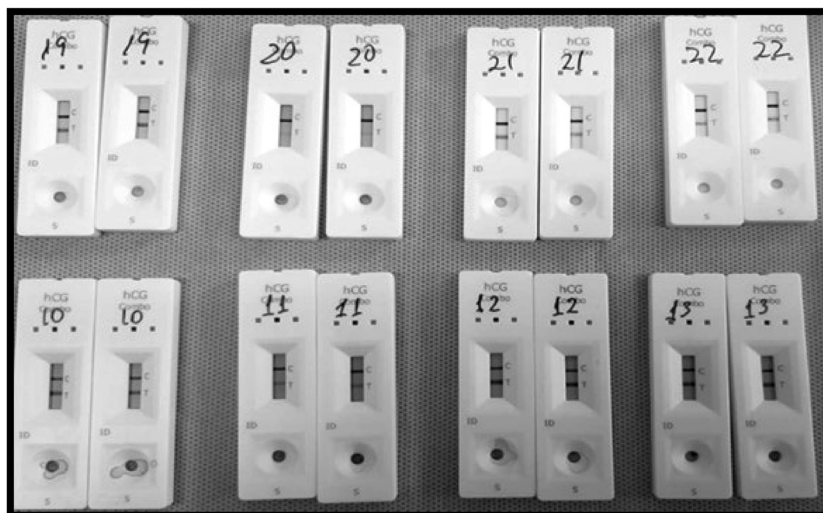
- i. Adicionar una gota de sustrato reactivo A y luego una gota de sustrato de reactivo B dentro de cada pozo e incubar a temperatura ambiente por dos minutos.
- j. Comparar el color desarrollado en las muestras positivas comparando con los controles positivos.
- k. Leer las reacciones en una placa óptica a una longitud de onda de 450 nm.
- l. Si está presente la hormona se formará una línea horizontal de color morado débil a intenso en la zona T (tamizaje) del kit.
- m. Calcular la concentración de la hCG utilizando la curva estándar.

## Anexo 7

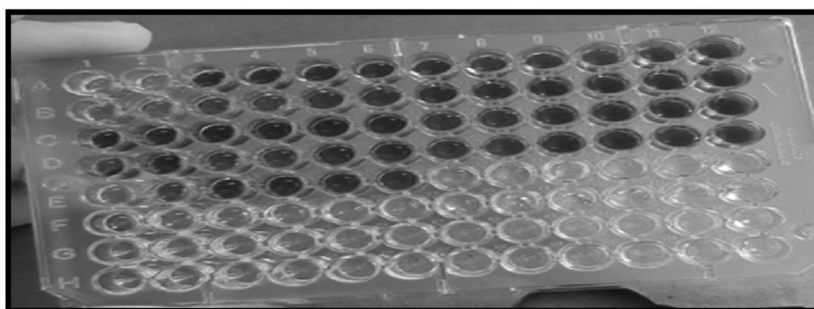
Realización de manchas de sangre de mujeres embarazadas en el soporte de una tela de algodón



Coloración en la banda T del kit, indica la presencia de la HCG en las manchas de sangre seca



Placa óptica, del procesamiento para la detección de la hCG en manchas secas de sangre de mujeres embarazadas



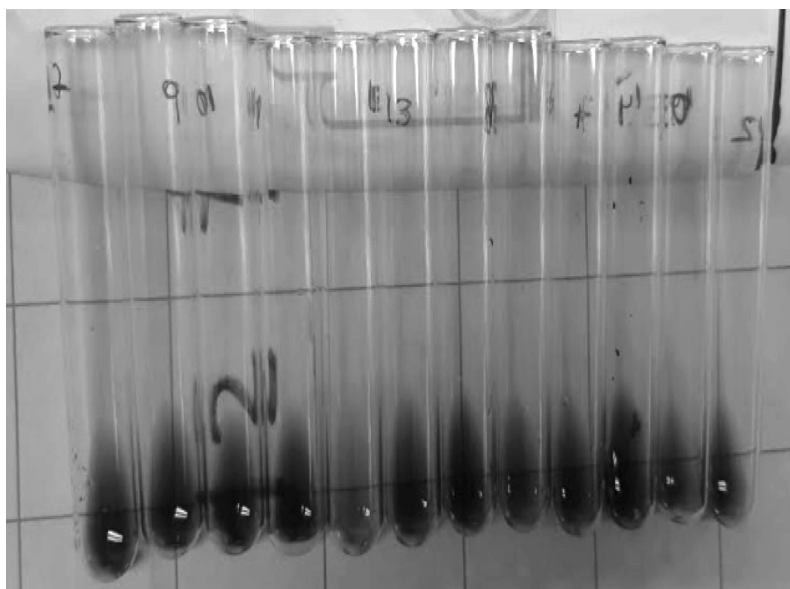
*Nota.* Las coloraciones verdes a turquesa en los pocillos de la placa indican la presencia de la hormona en cada una de la muestra

Recorte de las manchas de sangre de mujeres embarazadas durante el procesamiento para la detección de la hCG.

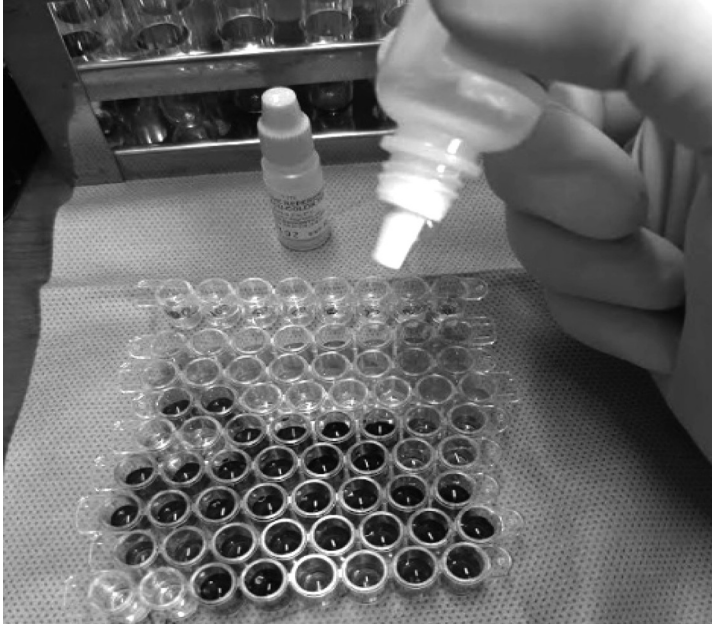




Dilución de las manchas de sangre seca de mujeres embarazadas en solución salina fisiológica, durante el procesamiento para la detección de la hCG.



Procesamiento de las muestras de las manchas de sangre de mujeres embarazadas para la detección cuantitativa de la hCG



Toma de muestra de sangre

