

REACTIVOS QUIMIOLUMINISCENTES PARA LA LOCALIZACIÓN DE SANGRE EN LAS ESCENAS**DELICTIVAS: LUMISCENE. PRUEBA COMPARATIVA DE SENSIBILIDAD****CHEMILUMINESCEN REAGENTS FOR THE LOCATION OF BLOOD IN CRIME SCENES: LUMISCENE. COMPARATIVE SENSITIVITY TEST**

Hernández Moreno M.
Criminóloga especializada en Criminalística, Especialista en Visualización de Patrones de Manchas de Sangre.
Doctoranda en Ciencias Forenses en la Universidad de Alcalá de Henares.
España.

Correspondencia: mahemo94@hotmail.com

Resumen: La correcta localización de sangre en las escenas delictivas es uno de los aspectos más cruciales y complejos de investigación de la escena del crimen, y está estrechamente relacionado con la correcta elección del reactivo quimioluminiscente para cada ocasión. Partiendo de la premisa de que cada uno de esos reactivos cuenta con un grado de sensibilidad diferente ante las muestras de sangre, se han generado 80 manchas pasivas de 10 diluciones variables, que han sido pulverizadas con 4 reactivos distintos con el fin de determinar hasta qué punto difieren sus resultados y cuál de ellos es el más sensible. Los datos recogidos demuestran que la sensibilidad de Lumiscene y Bluestar Forensic Magnum supera con creces la obtenida en las mismas condiciones con otros test como Luminol o Bluestar Forensic, y que las diferencias entre todos ellos son perceptibles también en aspectos como la intensidad o la duración de la luminiscencia que emiten.

Palabras clave: manchas de sangre, luminiscencia, sensibilidad, Lumiscene, Luminol, Bluestar Forensic.

Abstract: The correct blood location in crime scenes is one of the most crucial and complex aspects of the crime scene investigation. It is closely related to the correct choice of the chemiluminescent reagent for each occasion. Each one of these reagents has a different sensitivity level to the blood samples. Based on this premise, 80 passive bloodstains have been generated from 10 variable dilutions, which have been pulverized with 4 different reagents in order to determine how their results differ and which one is more sensitive. The collected data shows that the sensitivity of Lumiscene and Bluestar Forensic Magnum far exceeds the ones obtained under the same circumstances with other tests such as Luminol or Bluestar Forensic. It also shows that the differences among them are perceptible also in aspects like intensity and duration of the emitted luminescence.

Keywords: bloodstains, luminescence, sensitivity, Lumiscene, Luminol, Bluestar Forensic.

1. INTRODUCCIÓN

La sangre es uno de los vestigios más comunes y relevantes en las escenas delictivas. Su valor, además, es doble, al encerrar información que permitirá, por un lado, identificar a víctima y victimario a raíz de un estudio de ADN, y, por otro, aportar datos que faciliten la reconstrucción de lo ocurrido gracias al análisis de cada uno de los patrones y manchas que se observen en el escenario (1-3).

Sin embargo, la presencia de esa sangre en la escena, en muchas ocasiones, no es perceptible a nuestros ojos, al presentarse de forma latente, sobre superficies oscuras o en cantidades ínfimas.

Por todo ello, y en aras de tratar de solventar esta problemática, los analistas recurren a diferentes test de orientación, con formulaciones químicas variables, que facilitan su localización, determinando la presencia o no de patrones y manchas sobre superficies que hayan sido tratadas con ellos (4).

De entre todos esos reactivos, la presente investigación se centra estudiar los niveles de sensibilidad que presenta Lumiscene® ante muestras de sangre humana en concentraciones variables, tratando de establecer hasta qué punto es capaz de localizar sangre en un escenario y cómo le posicionan estos resultados frente al resto de test comercializados en la actualidad con los que también se ha trabajado.

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1 Hipótesis

Se parte de la hipótesis de que los reactivos quimioluminiscentes cuentan con una sensibilidad limitada que varía en cada caso, determinada mayoritariamente por la concentración de sangre en cada muestra analizada y por la formulación química presente en cada uno de ellos.

2.2 Objetivos

General:

- Determinar la sensibilidad de Lumiscene® para la localización de sangre en la escena.

Específicos:

- Analizar además de la reacción positiva o negativa ante cada muestra, la calidad de la luminiscencia que se emita con cada dilución.
- Establecer una comparativa que posicione Lumiscene® frente al resto de reactivos comercializados actualmente.

3. REACTIVOS QUIMIOLUMINISCENTES

La localización de sangre en la escena es fundamental para el correcto análisis y estudio posterior de sus manchas y patrones. Éstos pueden ser visibles o presentarse de forma latente, por lo que, en ocasiones, se deberá acudir a diferentes métodos de localización para determinar su presencia en el lugar de los hechos (4).

Entre todos ellos destacan las pruebas de orientación, que se han venido desarrollando desde el año 1829 y han ido avanzando y tornándose en métodos cada vez más eficaces y rigurosos (5). Son test que permiten que el especialista forense examine la posibilidad de que aquello que analiza en la escena pueda ser sangre, siendo necesario emplear posteriormente una prueba de certeza que lo determine de forma segura. Se basan, fundamentalmente, en mostrar cambios colorimétricos o emitir luminiscencia gracias a las propiedades catalíticas de la sangre (6).

Dado que la presente investigación se centra en el segundo grupo, los quimioluminiscentes, en el siguiente apartado se recogerán sus características principales y los elementos necesarios que deben estar presentes para que se produzca una reacción positiva con las muestras analizadas.

3.1. Desarrollo histórico

El desarrollo de los test orientativos comienza en las últimas cuatro décadas de 1800, cuando Bunsen y Kirchhoff descubren que cada uno de los compuestos capaces de irradiar luz, tenían un espectro luminoso propio característico. A raíz de ello, a comienzos de 1900, empiezan a emplearse compuestos químicos para generar reactivos que permitieran la localización de sangre basándose en cambios colorimétricos y/o emisión de luminiscencia de las muestras (5).

Uno de los primeros avances en los test basados en reacciones de oxidación, tuvo lugar en el año 1904 con la aportación de Adler, al demostrar que la hemoglobina presente en la sangre posee una capacidad enzimática que permite descomponer el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno, mostrando una coloración azul intensa al oxidarse como resultado de la reacción con el compuesto químico (7).

En 1910 se reporta el primer uso de fluoresceína para la detección de sangre en muestras de orina por parte de Fleig, sustituyendo la fenoltaleína por fluoresceína (5). Su aplicación en el ámbito forense no llegaría hasta el año 1995, momento en el que Cheesman lo emplea como test orientativo cubriendo grandes zonas de escenas delictivas con el fin de determinar la presencia o no de manchas de sangre (8).

Por su parte, el científico alemán H. Albrecht, publica en 1928, la revista *Zeitschrift für Physikalische Chemie* (Revista de Química Física), las cualidades quimioluminiscentes del Luminol tras haber experimentado con diferentes soluciones en presencia de peróxido de hidrógeno, peroxidasa vegetales y sangre (9), permitiendo con ello que

comenzaran a desarrollarse diversos estudios en biología y medicina al sentarse las bases de la fórmula precursora a la empleada en la actualidad (10).

Su uso para la detección de manchas de sangre en las escenas del crimen llegaría en 1937 de la mano de Walter Specht, científico del Instituto Universitario de Medicina Legal de Jena, Alemania (11). Specht, estudió de forma intensiva el luminol en relación a la detección de sangre, y sugirió que podría fotografiarse con fines analíticos y legales (9).

Las fórmulas que se emplean hoy en día en las escenas para la búsqueda de sangre surgieron en el año 1951 de la mano de Grodsky (Luminol, carbonato de sodio y perborato de sodio), y en 1966 de la mano de Weber (cambiando el carbonato de sodio por hidrógeno de sodio o potasio, y el perborato de sodio por peróxido de hidrógeno) (9,12).

Años después, en el 2000, el Dr. Loic Blum, con el afán de mejorar las propiedades del Luminol y conseguir aumentar su sensibilidad, incluyó en su fórmula una serie de ingredientes que no han sido desvelados, presentando así un nuevo reactivo, el Bluestar Forensic®, que quedaría mejorado en una nueva fórmula, el Bluestar Forensic Magnum®, con una sensibilidad tres veces mayor al original. En los últimos años, y ante la necesidad continua de lograr los mejores resultados en las escenas, surge un nuevo test orientativo, Lumiscene®, como resultado de una creación de los laboratorios de Loci Forensic Products al elaborar una minuciosa mezcla entre Luminol y Fluoresceína (9).

3.2. Fundamento químico

La característica principal de los test quimioluminiscentes es precisamente su capacidad de generar quimioluminiscencia: pueden emitir luz como resultado de una reacción química, sin que sea necesario aplicar una fuente lumínica adicional, al contrario de lo que ocurre en el caso de la fluorescencia (6,9).

Para comprender cómo funcionan estos test, y de qué manera se llega a conseguir esa luminiscencia, es necesario entender su química y el papel que desempeñan los elementos que participan de esa reacción.

Cada test quimioluminiscente necesita tres componentes: un oxidante, un catalizador y un elemento que ceda electrones. En las reacciones de los test con la sangre, el papel de cada componente lo cubrirán, siguiendo el orden anterior: H₂O₂ en proporción variable, el grupo férrico presente en la hemoglobina de nuestra sangre y el químico del test (14).

El papel catalizador que juega la sangre en esta reacción, al actuar como acelerador de la reacción, es fundamental. Tal y como recoge Franco de Ambriz (2002): “las peroxidases de la sangre son catalasas que poseen actividad catalítica (enzimática) en las reacciones de oxidación, ya que tienen la propiedad de descomponer el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno, que, al reaccionar con el test en cuestión, se oxidará, emitiendo luminiscencia variable”.

De todo ello se deduce que, cuando esos tres elementos entren en contacto y cada uno de ellos desempeñe el papel que se le ha asignado, se producirá una reacción de oxidación, a partir de la cual se podrá observar una emisión lumínica azulada-blanquecida, con una intensidad y duración variables función tanto del tipo de test como de las características de las muestras, tal y como quedará demostrado durante el experimento.

Sin embargo, uno de los grandes problemas a la hora de llevar a cabo este análisis, reside en la amplitud de variables que inciden en esa luminiscencia, entre las que destaca la sensibilidad con la que cuentan cada uno de los test orientativos. Razón por la cual se desarrolla esta investigación, ante la necesidad de determinar la diferencia de resultados entre Lumiscene y el resto los reactivos quimioluminiscentes, al tiempo que se establece cuál de ellos presenta los valores más favorables para la correcta búsqueda y localización de sangre en la escena.

3.3. Lumiscene®

Lumiscene® es una nueva y revolucionaria solución química a base de agua que se emplea en investigaciones forenses para la búsqueda de sangre en las escenas criminales.

Su composición, una mezcla entre luminol y fluoresceína, le otorga una gran cantidad de cualidades favorables, multiplicando sus ventajas frente al clásico Luminol o al resto de tabletas preparadas por otros comerciantes como Bluestar®.

Entre sus múltiples ventajas destaca que su luminiscencia es más intensa, gracias a la mezcla con fluoresceína y, además, más visible al posicionarse en el rango de los 525nm¹.

Ofrece igualmente una mayor sensibilidad ante las muestras sin degradar su ADN, al contar apenas con un 0,12% de peróxido de hidrógeno, lejos del usual 3% del resto de reactivos (9,13,16).

Por último, es necesario destacar que Lumiscene® es el único que permite ser observado también con luces forenses, concretamente, con una luz de entre 415 y 480nm y filtros o gafas naranjas, gracias a la presencia de fluoresceína en su mezcla (13).

3.3.1. Preparación y activación

Para su correcta mezcla y activación, y siguiendo las instrucciones facilitadas por el fabricante (anexo 1), deben introducirse las cuatro pastillas de peróxido de hidrógeno en el recipiente que contiene los 250 ml de líquido, moviendo su contenido de forma envolvente, sin agitar, en tres periodos tras cumplirse 1 minuto, 5, 10 y 15.

Transcurrido este tiempo, y tras comprobar que se han disuelto las pastillas por completo, se procede a su uso inminente, pues sus cualidades permanecerán intactas durante 4 horas a temperatura ambiente, pero se aconseja su uso antes de cumplirse las 2 primeras horas.

4. ESTUDIO EXPERIMENTAL

El estudio que se ha llevado a cabo es experimental, al ofrecer una medición del estado de la situación de las variables, profundizándose en las relaciones que se establecen entre las diferentes diluciones y la capacidad de cada uno de los reactivos de reaccionar de forma positiva al entrar en contacto con ellas.

Es, además, de tipo cualitativo, a fin de comprender el fenómeno que se examina, por lo que tiene una finalidad descriptiva-explicativa y observacional, pues se toma como única variable el nivel de sensibilidad de los test quimioluminiscentes, después de una serie de observaciones en situaciones controladas.

Para el desarrollo del experimento se ha empleado sangre extraída por venopunción de un donante sano (autora), tratada con citrato de sodio como anticoagulante y agua destilada para la creación de las diferentes diluciones. Además, han sido elegidas 2 superficies con características contrarias como lo son el textil y el vidrio, al presentar capacidades de absorción y permeabilidad totalmente antagónicas.

El procedimiento para la consecución de los objetivos de la investigación fue el siguiente:

1. Extracción de sangre por venopunción.
2. Disposición y referenciación de los tubos de centrífuga.
3. Creación de las diluciones (anexo 2).
4. Referenciación de las superficies.
5. Creación de las manchas.
6. Configuración de la cámara y preparación del reactivo.
7. Pulverización del test orientativo sobre cada una de las muestras y toma de fotografías.

¹ Loci Forensics, *Lumiscene*® <<https://www.lociforensics.nl/lumiscene/lumiscene/>>, [Consultado el 20/12/2020]. La emisión lumínica en la franja de los 525nm, al contrario de lo que ocurría con el resto de reactivos que se sitúan en los 425nm, facilita que nuestro ojo pueda observarla. Los conos de nuestro ojo están más sensibilizados en esa onda del espectro visible, permitiéndonos observar esa luminiscencia en condiciones óptimas.

Una vez se hubo finalizado el proceso descrito con el primero de los reactivos empleados, Lumiscene®, se procedió a su repetición para con los otros tres reactivos con los que se pretende comparar sus resultados: Luminol, Bluestar Forensic® y Bluestar Forensic Magnum®.

4.1. Descripción de la muestra

La muestra se compone de total de 80 manchas pasivas de sangre: se han creado 10 diluciones que irán depositándose sobre las superficies hasta crear 10 manchas en soportes de vidrio y 10 en soportes textiles para con cada uno de los 4 reactivos químicos seleccionados.

N° DE MUESTRAS		
SUPERFICIES	MUESTRA	DILUCIONES
Textil	Sangre humana	10
Cristal		10
		Total: 20

1 reactivo = 20 manchas
4 reactivos = 80

Imagen n°1: relación de muestras empleadas para el experimento. Fuente: elaboración propia.

El resto de las variables, tales como la cantidad de sangre en cada muestra, su método de conservación o su temperatura, se han mantenido en todo momento, logrando con ello que los resultados sean más objetivos y veraces al aislar la variable objeto de estudio.

4.2 Resultados

En el siguiente cuadro se recogen los resultados obtenidos con cada uno de los reactivos químicos seleccionados. Se ha seleccionado la dilución máxima ante la que el test ha sido capaz de emitir luminiscencia en cada ocasión, facilitando así la comparación de todos ellos de forma sencilla y objetiva.

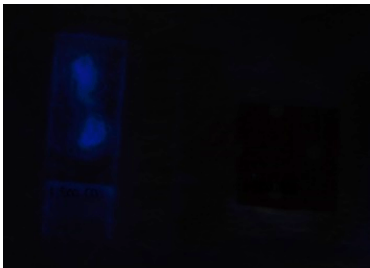

Lumiscene® – 1:500.000 	Luminol – 1:100.000 
Bluestar Magnum® – 1:400.000	Bluestar Forensic® – 1:1000



Imagen n°2: resultados obtenidos con los test quimioluminiscentes. Fuente: elaboración propia.

Tal y como puede observarse en el conjunto de las imágenes dispuestas en el cuadro anterior, Lumiscene® se posiciona como el reactivo con mayor sensibilidad, al ser capaz de emitir luminiscencia al entrar en contacto con la muestra más diluida, 1:500.000, seguido muy de cerca por Bluestar Forensic Magnum®.

Por el contrario, Bluestar Forensic® ha sido el reactivo con más limitaciones, al mostrar una sensibilidad mucho más baja y que apenas le permitió reconocer la sangre en la dilución 1:1000. Luminol, a pesar de que muestra también resultados poco favorables, es capaz de reaccionar de forma positiva ante sangre en concentraciones 1:100.000, posicionándose en un rango intermedio.

Destaca la irregularidad de la luminiscencia emitida por todos: en el caso de Lumiscene® y Bluestar Forensic Magnum®, su intensidad, duración y visibilidad superaron con creces a las obtenidas con los reactivos restantes, pudiendo visualizarse incluso en condiciones de luz natural.

Además, se hace necesario determinar que los mejores resultados se obtuvieron en los casos en los que la muestra de sangre descansaba sobre la superficie no porosa de vidrio, limitando mucho más la capacidad de reacción cada uno de los test en las muestras en textil.

Para concluir, y a modo de resumen se recogen en el siguiente gráfico los resultados obtenidos para cada reactivo haciendo una distinción en función del tipo de superficie en el que descansaba cada muestra. Los valores hacen referencia al nivel de dilución ante el que han sido capaces de seguir reaccionando, partiendo de 0, sangre pura, hasta el valor 500000 que hace referencia a la dilución 1:500.000.

De esta manera pueden observarse y compararse con mayor facilidad y objetividad cada uno de los resultados obtenidos durante toda esta fase.

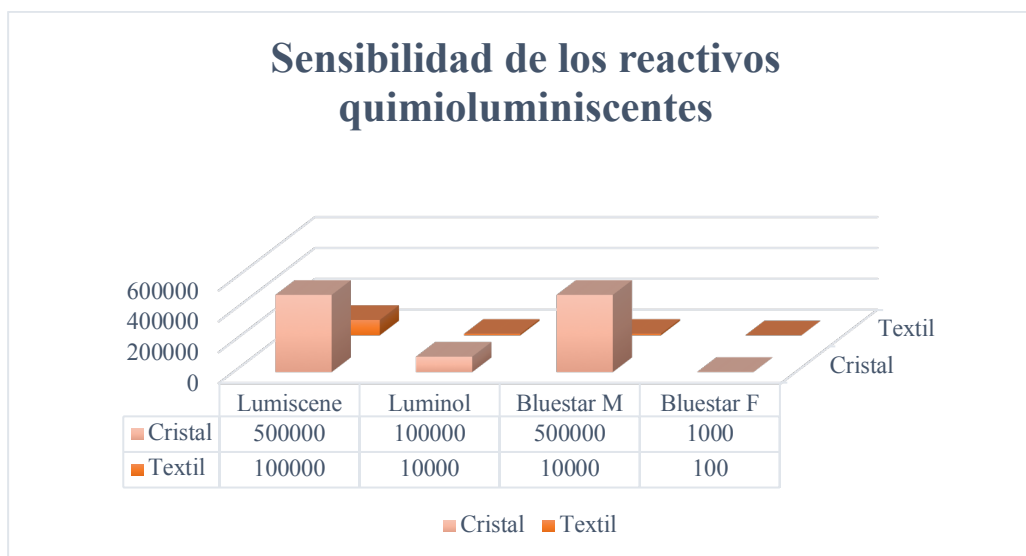


Imagen n°3: gráfico resumen de los resultados. Fuente: elaboración propia.

5. CONCLUSIONES

Los resultados logrados al tomar como referencia principal la variable sensibilidad, ponen de manifiesto las enormes diferencias que existen entre los test que actualmente se comercializan para la localización de sangre en las escenas delictivas.

Queda probado que a medida que la concentración de sangre en la muestra disminuye, lo hace proporcionalmente la capacidad del test para reaccionar de forma positiva ante ella, limitando su actuación.

De entre los cuatro reactivos estudiados y analizados, destaca la sensibilidad demostrada por Lumiscene® y Bluestar Forensic Magnum®, capaces de emitir luminiscencia incluso ante las muestras con los niveles más bajos de concentración de sangre. Por el contrario, Bluestar Forensic® arroja los peores resultados, posicionándose muy lejos del resto.

Las diferencias entre ellos son igualmente palpables en lo que a calidad de luminiscencia se refiere: de nuevo Lumiscene® y Bluestar Forensic Magnum® se posicionan como los reactivos químicos más recomendables, al emitir una luminiscencia más intensa y duradera, que puede incluso observarse a plena luz del día.

En cuanto a las superficies, se hace necesario determinar que las características antagónicas de las 2 empleadas para el experimento, interfieren en cierta medida en los resultados, dificultando la actuación de los test quimioluminiscentes en el caso de las textiles, por su capacidad de absorción.

Teniendo en cuenta todo lo anteriormente descrito, se puede afirmar que la elección de uno u otro de los test quimioluminiscentes para la localización de sangre, basándonos en los resultados obtenidos, puede suponer el éxito o el fracaso del conjunto de investigaciones que puedan desarrollarse a lo largo de la inspección ocular de una escena criminal.

Por todo ello, conocer las limitaciones, las ventajas y los métodos más eficaces para la correcta mezcla y pulverización de los reactivos que vayan a ser empleados en cada ocasión, permitirá que las investigaciones en los escenarios delictivos sean más eficaces, al facilitar la labor de los analistas de patrones de manchas de sangre.

6. BIBLIOGRAFÍA

- (1) Villalain JD. Apuntes de Medicina Legal Criminalística. Madrid: Departamento de Medicina Legal; 1975.
- (2) Guzmán C. Manual de Criminalística. 3rd ed. Buenos Aires: Ediciones La Roca; 2000.
- (3) Franco de Ambriz M. Hematología Forense . Cuarta ed. México: Porrúa; 2002.
- (4) Royo Villanova R. La sangre en el lugar del suceso. Anuario de derecho penal y ciencias penales 1967;20:489-508.
- (5) Castelló A. Revisión crítica del diagnóstico de orientación en el estudio de las manchas de sangre: falsos negativos en la prueba de Adler. Una aportación de la Química Legal [Tesis doctoral]. Universitat de València; 1997.
- (6) James SH, Kish PE, Sutton TP. Principles of Bloodstain Pattern Analysis: Theory and Practice.: CRC Press Edition; 2005.
- (7) Carreño Ríos L. Técnicas utilizadas en Hematología Forense, Hematología y Serología, 2018, en Criminalistica.mx. <<https://www.criminalistica.mx/areas-forenses/hematologia-y-serologia/1521-tecnicas-utilizadas-en-hematologia-forense>> [Consultado el 18/11/2020].
- (8) Quickenden T, Ennis C, Creamer J. The forensic use of luminol chemiluminescence to detect traces of blood inside motor vehicles. Luminescence. The Journal of Biological and Chemical Luminescence 2004;19(5):271-277.
- (9) Morgan Cheyne. Illuminating Latent Blood. Application methods, fixatives, alternatives and new formulas for luminol, The University of Auckland, 2011.
- (10) Dilbeck L. Use of Bluestar Forensic in Lieu of Luminol at Crime Scenes. Journal of Forensic Identification 2006 Sep;56(5):706.
- (11) Cedrón JC. Luminol. Revista de Química PUCP 2013; 25:1-2.
- (12) Patel G, Hopwood A. An evaluation of luminol formulations and their effect on DNA profiling. Int J Legal Med 2013;127(4):723-729.
- (13) Andersson Rebecca. An Evaluation of Two Presumptive Blood Tests and Three Methods to Visualise Blood. 2017.

(14) Koen W, Bowers M. Presumptive and Confirmatory Blood Testing. Forensic Science Reform. Protecting the Innocent: Elsevier Inc; 2017. p. 239-269.

(15) L. Arbeláez Murillo, L. Herrera Ríos. Validación de los métodos bluestar forensic free y thevenon roland-piramidón como pruebas preliminares en la investigación de sangre de intereés forense Pontificia Universidad Javeriana; 2009.


(16) Bressler J. Effect of Four Latent Blood Visualization Products on DNA. Journal of Bloodstain Pattern Analysis 2014;30(3).

ANEXOS

Anexo 1 manual de usuario Lumiscene Kit:

USER'S MANUAL

LUMISCENE KIT - 3002501




Intended use
 The Lumiscene kit is designed to help visualize latent bloodstains based on a chemiluminescence reaction, a reaction which produces light. When Lumiscene comes in contact with blood the peroxidase-like activity of the haemoglobin forms the basis of the production of light. Lumiscene must be used by trained personnel and only be applied by vaporisation. We hardly advice to apply Lumiscene with the CSAIR Compressor or a similar compressor.

Precautions
 Do not use the Lumiscene kit when handed with a broken seal and do not use after the expire date. Read the Material Safety Data Sheet for the Lumiscene stock solution and activation tablets prior to use. These MSDS are available in PDF format on our web site under "Download Center".

Kit contents
 1 x Large bottle containing 250 ml. of Lumiscene Solution.
 1 x Sprayer, individually DNA-Free (ETO) packed.
 1 x Small container containing 4 activation tablets.
 1 x Instructions for use.

Mixing procedure
 1. Place the bottles on a clean, stable and horizontal surface;
 2. Open the 250 ml. Lumiscene Solution;
 3. Open the bottle containing the activation tablets;
 4. Add the tablets to the stock solution as shown on the picture and screw the cover on the Lumiscene solution firmly
 (1 tablet = 0,12 % H₂O₂, 2 tablets = 0,24 % H₂O₂, 3 tablets = 0,36 %, H₂O₂ on 4 tablets = 0,48% H₂O₂);
 5. Shake gently for 1 minnte after 5, 10 and 15 minutes.
 The Lumiscene is now activated.



Lod Forensics B.V.
 Haverstraat 49
 2153 GD Nieuw-Vennep
 The Netherlands
 E-mail: info@lociforensics.nl
 Website: www.lociforensics.nl

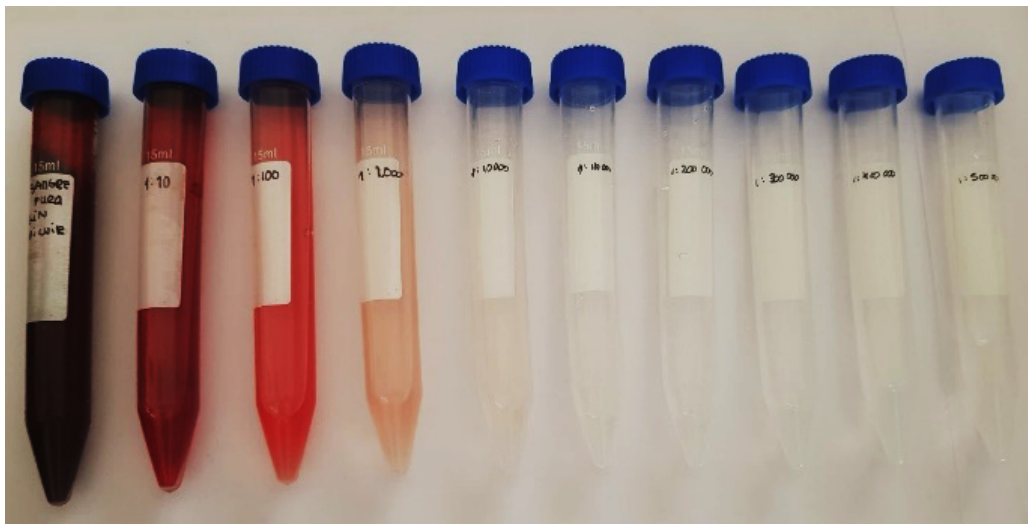
De: <https://www.lociforensics.nl/images/User%27s%20Manual%20Lumiscene%20-%2020250%20ml%20-%202020.pdf>

Anexo 2 creación de muestras mediante diluciones:

Con ayuda de una pipeta medidora se toma 1ml de la sangre recién extraída y se deposita en un tubo de centrifuga limpio y seco al que se le han añadido 9ml de agua destilada, consiguiendo la dilución 1:10. A partir de esta muestra se seguirá un mismo procedimiento: 1 ml de la disolución que acaba de realizarse y 9 ml de agua destilada se mezclarán en un nuevo tubo de centrifuga limpio y seco, consiguiendo así que la concentración de sangre en la disolución resultante sea cada vez menor. De esta forma, y a medida que se pipetee ese ml de sangre ya diluida sobre otros 9 ml de agua destilada en un nuevo tubo de centrifuga, se conseguirá rebajar la concentración, consiguiendo disoluciones de concentración 1:100 1:1000 1:10000 y 1:100000.

Una vez conseguida la disolución 1:100000, el proceso para las siguientes varía significativamente, siendo necesaria la preparación de 4 tubos de centrifuga con 2ml de esa última disolución, 1:100000. A esos tubos se les deberá añadir agua destilada con valores de 2ml en el primero, 4ml en el segundo, 6ml en el tercero y 8ml en el cuarto, logrando así disoluciones de concentración 1:200000 1:300000 1:400000 y 1:500000 respectivamente.

El resultado de las diluciones creadas queda recogido en la siguiente imagen, ordenadas de más a menos concentración de sangre en ellas:



Anexo 2 creación de las diluciones. Fuente: elaboración propia.