

5.1.2. Traducción del inglés

Determinación experimental por MEB de manchas de sangre de animal de caza mamífero en herramientas de piedra

Resumen

Ha sido anteriormente evidenciada en implementos prehistóricos la presencia de eritrocitos (glóbulos rojos de la sangre, GRS) de mamífero morfológicamente completos provenientes de manchas de sangre. Mientras que la presencia de sangre antigua no humana en una herramienta prehistórica es evidencia del uso real de ésta sobre un recurso animal, la presencia de GRS en una mancha es evidencia de sangre. En una simulación de una cadena operativa humana de predación prehistórica, se obtuvieron en implementos de sílex como los paleolíticos manchas de sangre de mamífero de dos especímenes pertenecientes al orden Artiodactyla: pécarí de collar (*Tayassu tajacu*, familia Tayassuidae) y gacela dorcas (*Gazella dorcas*, familia Bovidae). Tras un año, la mancha de sangre sin enterrar de pécarí y la enterrada de gacela fueron recubiertas con oro y examinadas mediante un microscopio electrónico de barrido. Los resultados revelaron la presencia de GRS conservados con varias formas como las halladas en estudios hematológicos, así como fracturas plasmáticas curvadas y huellas negativas, dos morfologías características de manchas de sangre que se interpretan como debidas, respectivamente, a interacción eritrocito-plasma al secarse y a impresión por la matriz de plasma seca.

Palabras clave: Glóbulos rojos de la sangre, manchas de sangre, Microscopia Electrónica de Barrido, Hemotafonomía, Paleolítico, Arqueología Experimental.

Introducción

La presencia de eritrocitos (glóbulos rojos de la sangre, GRS) de mamífero morfológicamente completos provenientes de manchas de sangre ha sido anteriormente evidenciada en implementos prehistóricos (p. ej. Loy 1983; Loy y Dixon 1998). El estudio de manchas de sangre puede ser un complemento valioso para las investigaciones paleoecológicas humanas. Una integración de las trazas de uso, residuos y tecnología lítica es esencial para interpretaciones de cómo se usaron herramientas de piedra (Fullagar 1998) y, en

este sentido, la presencia de sangre no humana antigua sobre un implemento representa una fuerte pista para el uso de este implemento sobre un recurso animal. A la vez, en el análisis forense la presencia de GRS en una mancha es evidencia para la presencia de sangre (López 1953; Fiori 1962; Villanueva 1998). Un instrumento apropiado para el examen de las características microestructurales de las manchas de sangre es el microscopio electrónico de barrido (MEB). Los aspectos principales del MEB son su alta resolución para objetos abultados, y su gran profundidad de campo y contraste electrónico (efecto de relieve por sombreado) que resulta en un aspecto tridimensional de la imagen del espécimen. A causa de su capacidad de examinar objetos a muy bajo aumento, el MEB resulta una herramienta muy útil en estudios forenses y arqueológicos (Goldstein *et al.* 1992). Además, desde el punto de vista de la confirmación de sangre en manchas antiguas, las instalaciones de MEB están generalmente más disponibles para los paleobiólogos y bioarqueólogos que los laboratorios de Biología Molecular.

La investigación de organismos modernos dirigida hacia la comprensión de análogos fósiles es una rama de la Paleontología denominada Actuopaleontología (Stiegele 1976). Ésta se basa en el Principio del Actualismo ('el presente es la clave del pasado'), el cual a su vez es la base de la Arqueología Experimental. Así, el enfoque experimental se utiliza tanto en Paleontología (p. ej. Briggs y Kear 1993) como en Arqueología (p. ej. Charters *et al.* 1997). En el caso de manchas de sangre, las muestras experimentales (modernas) son relevantes para el estudio de manchas prehistóricas (antiguas) no solamente a fin de determinar los cambios potenciales de forma de los eritrocitos en manchas de sangre sobre piedra, sino también porque la conservación a corto plazo de la integridad del GRS es una condición previa *sine qua non* para la conservación a largo plazo.

En un estudio sobre la morfología de GRS en manchas de sangre sobre herramientas de piedra, se realizó una simulación de una cadena operativa humana de predación prehistórica, desde la talla de la piedra hasta usar las herramientas fabricadas sobre animales de caza mamíferos. Un corte accidental durante el episodio de la talla de la piedra, proveyó una mancha de sangre humana sobre una de esas herramientas, que fue analizada por MEB después de tres meses de mantenimiento (Hortolà 1992a). Un fragmento desprendido de otra herramienta manchada con sangre de animal de caza mamífero fue caracterizada por MEB después de seis meses de mantenimiento (Hortolà 1992b), y la parte restante de aquella muestra se guardó para un estudio por MEB adicional. También se guardó una tercera herramienta

manchada con sangre de otra especie de animal de caza mamífero para ser examinada por MEB después del mismo lapso de tiempo que la parte restante. En este artículo, informo de la determinación por MEB de estas últimas manchas de sangre.

Materiales y métodos

Se obtuvieron sobre herramientas como paleolíticas de sílex blanco dos manchas de sangre de mamífero de especímenes pertenecientes al orden Artiodactyla, muertos en un parque zoológico. Después de la muerte, los cadáveres animales se habían almacenado a 0°C en una cámara fría; no se determinó la causa de la muerte en examen grosero. Ambas manchas se obtuvieron en la misma sesión experimental después de dejar los cadáveres fuera de la cámara para adquirir la temperatura ambiente. Una mancha de sangre se obtuvo desollando un pécari de collar [*Tayassu tajacu* (L.), familia Tayassuidae] con una réplica de cuchillo, y la otra punzando una gacela dorcas [*Gazella dorcas* (L.), familia Bovidae] con una réplica de punta de proyectil.

El cuchillo se manchó con una película delgada de sangre, mezclada de manera natural con líquido seroso, de debajo del costillar del espécimen, el cual era una hembra de unos 10 años de edad que había muerto tres de semanas con anterioridad al ejercicio. Después del uso, la herramienta se secó al aire libre la primera semana; la exposición a la luz del sol fue aproximadamente de una hora por día. Después de esta semana, el cuchillo se dejó insepulto bajo condiciones de interior fluctuantes e inestériles. Las condiciones microclimáticas de la sala durante el lapso de tiempo de mantenimiento se estimaron según los resultados de medidas tomadas *in situ* (temperatura media 21°C, rango desde ≤ 12 hasta ≥ 32.5 °C; humedad relativa media 65.5%, rango desde ≤ 37 a ≥ 83 %). Después de un año, el cuchillo se recuperó directamente sin cepillar el área manchada de sangre.

La punta de proyectil se manchó con una película gruesa de sangre, directamente desde el corazón del espécimen, que era una hembra de unos 3 años de edad que había muerto dos de semanas antes del ejercicio. La sangre cardíaca era fluida, no coagulada. Después del uso, la herramienta se secó sin sol directo durante un día. Después de este período, la herramienta se enterró a 7,5 cm de profundidad en suelo vegetal, al aire libre bajo condiciones naturales en un área inalterada. Previamente, aquel suelo vegetal se determinó por el método de la pasta saturada (Gutián 1964) como de $6 < \text{pH} < 7$, que está de acuerdo con el rango de $6 < \text{pH} < 8$ de los suelos arqueológicos típicos (Loy 1983). Las condiciones ambientales del área al aire libre

durante el período de entierro se estimaron ser, aproximadamente, 16.5°C de temperatura media del aire (rango desde $\leq 2^{\circ}\text{C}$ hasta $\geq 34.5^{\circ}\text{C}$), 61.5% de humedad relativa media del aire (rango desde $\leq 55\%$ hasta $\geq 70\%$), y 545 mm de lluvia absoluta; estas estimaciones se hicieron según datos para la localidad de entierro del resumen climatológico del Centro Meteorológico Zonal de Barcelona oficial. Después de un año, esta punta de proyectil se recuperó a 10,5 cm de profundidad excavando primero un lecho arcilloso y entonces la capa como de paleosuelo, habiendo así, en un año, ganado 3 cm de sedimento por encima de la superficie original de suelo. El implemento exhibió una área adherida de suelo sobre una de las aristas del proyectil. Según experimentos informados (Loy 1983), se presumió que esta área retenía la mancha de sangre, siendo debida la mayor adherencia de las partículas de suelo a interacciones electrostáticas con el residuo de sangre. Cerca de la mitad de esta área se cepilló suavemente con un cepillo suave bajo un microscopio binocular de poco aumento; bajo esta área de suelo adherido apareció un color rojizo, más claro que al tiempo del manchado de sangre. En algunos casos, hasta 50% del residuo original de sangre puede ser secuestrado en los primeros 0,1 mm de suelo (Loy 1983). Así, con la finalidad de probar la presencia de GRS en el suelo adherido, la parte restante del área se dejó sin cepillar, si bien algo del suelo adherido más superficial ya había sido removido durante el proceso de excavación de la muestra.

Seguidamente, las caras manchadas de sangre visiblemente (alrededor de 7 cm² para el cuchillo) o supuestamente (alrededor de 3,5 cm² para la punta de proyectil) se recubrieron con oro por una unidad E 5000 de recubrimiento de MEB (Polaron Equipment Ltd., Watford, Reino Unido), y entonces examinadas a un voltaje de aceleración de 15 kV por un microscopio de electrónico de barrido Stereoscan 120 (Cambridge Instruments Ltd., Cambridge, Reino Unido). Las micrografías se hicieron utilizando una película profesional (de alta sensibilidad) T-Max 400 ISO (Kodak Ltd., Hemel Hempstead, Reino Unido).

Resultados y discusión

Las Figs. 1-4 muestran algunos GRS de la mancha de sangre insepulta de pécarí. En la Fig. 1, se muestran GRS en un área cercana a la del fragmento de 6 meses de mancha de sangre (Hortolà 1992b). Pueden verse claramente un eritrocito roto (**b**) próximo a uno de intacto, una fractura de plasma que delinea un eritrocito aplanado (**m**), y un disco aplanado sin depresión central (leptocito, **l**). La Fig. 2 muestra algunos GRS cerca del filo del cuchillo. Puede verse inclinado un disco aplanado mutilado con una delgada depresión central

(leptocito, **l**); su fragmento separado aparece por arriba de él (flecha). Las líneas blancas confinan una fractura del plasma curvada con un tamaño visible de $6,71\ \mu\text{m}$, similar al de una de $6,60\ \mu\text{m}$ hallada anteriormente en el fragmento de 6 meses (Hortolà 1992b, Fig. 3). Éste es mayor que el diámetro medio ($6,0\ \mu\text{m}$) para las hembras de *Tayassu* sp., asumiendo que composición celular sanguínea es similar a la del cerdo doméstico (*Sus scrofa* L.), como sostiene Jain (1986). En la Fig. 3, se muestran GRS cerca del área del filo, con un aspecto parecido a los exhibidos por el fragmento de mancha de sangre de 6 meses (Hortolà 1992b). Pueden verse varias fracturas del plasma curvadas (p. ej. **m**), un eritrocito plegado o célula en silla (xerocito, **x**), y una célula espiculada (equinocito, **e**). También se muestran dos leptocitos apilados como en rouleaux (**pl**). Los agregados eritrocitarios lineales (rouleaux) y no lineales ('en masa') resultan de la acción de largas globulinas plasmáticas asimétricas (principalmente, α_2 -macroglobulina e inmunoglobulinas G y M), que forman puentes entre GRS adyacentes y vencen su repulsión mutua debida a cargas superficiales negativas resultantes primariamente de los residuos de ácido siálico (Lowe 1987). La Fig. 4 muestra algunos GRS en otra área cercana a la del fragmento de mancha de sangre de 6 meses (Hortolà 1992b). Se muestran un típico eritrocito en disco bicóncavo (discocito, **d**), un GRS aparentemente roto (**b**) que mantiene su morfología de eritrocito, y una réplica negativa (original del plasma) de este u otro GRS (**n**).

Las Figs. 5-8 muestran algunos GRS de la mancha de sangre de gacela enterrada. En la Fig. 5, puede verse lo siguiente a lo largo del área expuesta: un supuesto equinocito (**e**), un GRS bicóncavo (discocito) o esférico (esferocito) parcialmente cubierto de plasma (**ds**), así como algunas formas que pueden ser una mezcla de huellas negativas y fracturas plasmáticas curvadas (p. ej. **m**). La Fig. 6 muestra algunos supuestos GRS en el suelo adherido. Un GRS cuasi-discocito (**d**) es visible en una inclinación topográfica del lecho de suelo. En primer plano, las líneas blancas confinan otro GRS cuasi-discocito, que parece estar casi desprendido de una placa (**P**), con un tamaño visible de $4,52\ \mu\text{m}$. Tal tamaño está por debajo de los $5,72\ \mu\text{m}$ de diámetro medio de eritrocitos determinado en hembras de gacela dorcas del mismo surtido del parque zoológico (Peinado *et al.* 1990). Esta diferencia en diámetro como la dada a conocer por MEB podría ser debida a encogimiento por el secado de la sangre. En un estudio de MEB sobre una momia egipcia femenina, se halló un diámetro eritrocitario mínimo de $3,4\ \mu\text{m}$ (Riddle *et al.* 1976), mientras que se informó de un tamaño medio del eritrocito humano de $7,49\ \mu\text{m}$ a partir de estereomicrografías de MEB (LeBlond y Shoucri 1978). Esta diferencia en magnitud es más de tres veces la diferencia de tamaño en el encontró en el cuasi-discocito

mostrado. Se supone que la placa es un fragmento liso de plasma del área no central de la mancha, periférica; y ésta y que el discocito está en posición secundaria debido a su remoción desde el implemento durante la excavación o procesado post-entierro. En la Fig. 7, se exhibe un cuasi-esferocito (s), que está casi separado del supuesto plasma (P); para una mejor interpretación, la micrografía se muestra girada respecto a la posición en que se hizo. La Fig. 8 muestra un supuesto agregado 'en masa' de GRS, no polen ni esporas. Los cuerpos más sobresalientes exhiben un rango de diámetro de 3,71 μm (p. ej. a) a 6,41 μm (p. ej. z). Esta aparente variabilidad de tamaño eritrocitario (anisocitosis) amplia podría ser debida al proceso de agregación 'en masa'.

Aunque, hasta donde se sabe, las diferencias en diámetro de GRS de mamífero oscilan desde 2,1 μm en el ciervo ratón [*Tragulus javanicus* (Osb.)] hasta 9,2 μm en el oso hormiguero gigante (*Myrmecophaga tridactyla* L.) y elefantes [*Elephas maximus* L. y *Loxodonta africana* (Blumenb.)], los valores entre estos extremos pueden estar representados por una o más especies. Por ejemplo, para el diámetro eritrocitario de 7,0 μm , podemos encontrar a la vez el tejón de collar (*Arctonyx collaris* Cuv.), el otoción [*Otocyon megalotis* (Desm.)], el tití de penachos blancos [*Callithrix jacchus* (L.)], el oposum de Australia [*Trichosurus vulpecula* (Kerr)], el conejo doméstico [*Oryctolagus cuniculus* (L.)] y la ardilla malabar [*Ratufa indica* (Erxl.)] (Handley y Ponder 1961). También, dentro de una especie podemos encontrar una gama de GRS que concuerda con el diámetro eritrocitario medio de otra especie; por ejemplo, el rango de 4,0-8,0 μm en GRS normales en el pécarí (*Tayassu* sp.) y cerdo (*Sus scrofa*) (Jain 1986) concuerda con el diámetro eritrocitario típico para la mayoría de especies mamíferas (Handley y Ponder 1961). Estas similitudes en el diámetro, junto con la anisocitosis exhibida por los GRS en las muestras examinadas, apoya la previa declaración que las muy ligeras diferencias en diámetro eritrocitario en mamíferos no permiten una discriminación taxonómica en base al tamaño (p. ej. López 1953). La variabilidad de la forma de los GRS (poiquilocitosis) sería útil para propósitos taxonómicos únicamente para determinar los bien conocidos característicos eritrocitos elípticos de la familia Camelidae (p. ej. Banks 1981; Jain 1986). Además, las diferencias sexuales y, principalmente, el encogimiento eritrocítico observado en las manchas de sangre hacen esta determinación taxonómica de GRS aun más ambigua, especialmente si se intenta tal determinación con unos pocos eritrocitos.

Aunque el número de manchas de sangre presentado en este artículo es pequeño, la existencia de un gran número de GRS en la sangre mamífera provee las réplicas apropiadas para cada tipo de mancha de sangre; por ejemplo, en dos hembras de *Tayassu* sp. el recuento eritrocitario medio fue de $8,22 \cdot 10^6 \cdot \text{mm}^{-3}$ (Jain 1986), y en quince hembras de *Gazella dorcas* fue de $12,85 \cdot 10^6 \cdot \text{mm}^{-3}$ (Peinado *et al.* 1990). Un hecho importante en el estudio morfológico de eritrocitos originarios de mancha de sangre no es el número de manchas examinadas, sino la superficie y espesor de cada una, lo último proveyendo de diferentes sesgos de bajo y alto aumento (Hortolà 1992a).

Mientras que el entierro de un muestreo provee un mayor similitud con las condiciones tafonómicas finales, el mantenimiento insepulto permite una determinación experimental más precisa de la posible influencia de variables meteorológicas sobre los cambios diagenéticos en una muestra biológica. Además, las condiciones de sala no controladas están destinadas a simular un ambiente inicial de cueva, con condiciones climáticas parecidas a las que afectarían a una mancha de sangre pre-sepultada.

Dado que los eritrocitos son característicos de la sangre (p. ej. Fiori 1962), el conocer las formas que adquieren los GRS en un mancha de sangre nos permite caracterizar morfológicamente estos tipos de manchas, y así confirmar, simplemente utilizando un MEB, el origen sanguíneo de una mancha.

Conclusión

Se halla en este estudio que las fracturas plasmáticas delineando eritrocitos aplanados y las huellas negativas de eritrocitos son las morfologías más características de las manchas de sangre, y concuerda con anteriores análisis por MEB (Hortolà 1992a; Hortolà 1992b; Hortolà 1994). Estas fracturas plasmáticas y huellas negativas serían debidas, respectivamente, a la interacción eritrocito-plasma al secarse y a la acción de dejar huella por la matriz seca de plasma. Obviamente, estas morfologías de GRS debidas a fenómenos de secado de la mancha no se hallan bajo condiciones fisiológicas. Otros GRS originarios de mancha comparten morfología con los hallados en estudios hematológicos (p. ej. Bessis 1974; Castoldi 1981; Barnhart *et al.* 1983; Jain 1986).

Anteriormente, se propuso el término Hemotafonomía para referirse al 'estudio de las manchas de sangre, y especialmente de los cambios en apariencia y tamaño de los componentes celulares, así como las características de su posición celular y apariencia en función de la

topografía superficial y composición del sustrato' (Hortolà 1992a). El estudio de las diferentes morfologías de GRS y matriz plasmática exhibidas en las manchas de sangre representa un campo en desarrollo con implicaciones paleobiológicas y forenses.

Agradecimientos

Doy las gracias al Parque Zoológico de Barcelona por el suministro de los especímenes de animales de caza, al Instituto Botánico de Barcelona por la instalación de entierro en un área marginal de su vivero al aire libre, y a los Servicios Científico-Técnicos de la Universidad de Barcelona por el uso de su instalación de Microscopia Electrónica. Este artículo ha sido redactado durante el apoyo de una beca (DGESIC N° ACP1999-0177) y un proyecto subvencionado (DIGICYT N° PB-96-1026-C03-02) del gobierno español, y una subvención (CIRIT N° 1999SGR00181) del gobierno catalán.

Texto de las figuras

Figura 1. Mancha de sangre insepulta de pécarí de collar. GRS en una área cerca de la del fragmento de mancha de sangre de 6 meses. Pueden verse claramente un eritrocito roto (**b**) próximo a uno de intacto, una fractura plasmática delineando un eritrocito aplanado (**m**), y un leptocito (**l**). Barra de aumento = 20 μm .

Figura 2. Mancha de sangre insepulta de pécarí de collar. GRS cerca del área del filo. Puede verse inclinado un leptocito mutilado (**l**); su fragmento separado aparece por arriba de él (flecha). El cursor confina una fractura plasmática curvada con un tamaño visible similar al hallado anteriormente en el fragmento de mancha de sangre de 6 meses. Separación de las líneas blancas = 6.71 μm .

Figura 3. Mancha de sangre insepulta de pécarí de collar. Se muestran GRS cerca del área del filo, con un aspecto parecido a los exhibidos por el fragmento de mancha de sangre de 6 meses. Se muestran también fracturas plasmáticas curvadas (p. ej. **m**), un xerocito (**x**), y un equinocito (**e**). También se muestran dos leptocitos apilados como en rouleaux (**pl**). Barra de aumento = 10 μm .

Figura 4. Mancha de sangre insepulta de pécarí de collar. GRS en una área cercana a la del fragmento de mancha de sangre de 6 meses. Se muestran un discocito (**d**), un GRS aparentemente roto (**b**) que mantiene su morfología de eritrocito, y una réplica negativa de este u otro GRS (**n**). Barra de aumento = 10 μm .

Figura 5. Mancha de sangre sepultada de gacela dorcas. A lo largo del área expuesta, pueden verse un supuesto equinocito (**e**), un discocito o esferocito parcialmente cubierto de plasma (**ds**), así como algunas formas que pueden ser una mezcla de huellas negativas y fracturas plasmáticas curvadas (p. ej. **m**). Barra de aumento = 20 μm .

Figura 6. Mancha de sangre sepultada de gacela dorcas, suelo adherido. Un supuesto GRS cuasi-discocito (**d**) es visible en una inclinación topográfica del lecho de suelo. Se muestra

otro cuasi-discocito, como formando parte de un supuesto fragmento de plasma liso (**P**); podrían estar en posición secundaria. Separación de las líneas blancas = 4.52 μm .

Figura 7. Mancha de sangre sepultada de gacela dorcas. Se exhibe un cuasi-esferocito (s), que está casi separado del supuesto plasma (**P**). Para una mejor interpretación, la micrografía está girada respecto a como se hizo. Barra de aumento = 10 μm .

Figura 8. Mancha de sangre sepultada de gacela dorcas. Se muestra un supuesto agregado 'en masa' de GRS, no polen ni esporas. Los cuerpos más sobresalientes exhiben un rango en diámetro de 3,71 μm (p. ej. **a**) a 6,41 μm (p. ej. **z**). Esta aparente variabilidad de tamaño eritrocitario (anisocitosis) amplia podría ser debida al proceso de agregación 'en masa'. Barra de aumento = 10 μm .

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
MORFOLOGÍA DE ERITROCITOS DE MAMÍFERO EN MANCHAS DE SANGRE: ESTUDIO SOBRE MATERIALES
LÍTICOS DE INTERÉS TECNOPREHISTÓRICO
Policarp Hortolà i Gómez
ISBN:978-84-691-1906-8/D.L: T-356-2008

**6. ARTÍCULOS SOMETIDOS
- PARA SU PUBLICACIÓN**

6.1. Morphological characterisation of red blood cells in human bloodstains on stone: a systematical SEM study

Policarp Hortolà

6.1.1. Original

Abstract

Mammalian erythrocytes or red blood cells (RBC) have been previously reported as forming part of residues on prehistoric implements assigned to be as far as around two million years old. On the basis of the Principle of Actualism, several thick smears of human blood were obtained on chert, and then stored in a unsterile room under microclimatically unmanipulated fluctuating conditions. After increasing lengths of storage time span (from 1-36 months), the bloodstains were coated with gold and then examined at an accelerating voltage of 10 kV by a Cambridge Stereoscan 120 scanning electron microscope. Results revealed in all the smears the presence, in the thicker areas, of an erythrocyte acme-zone with packed RBC, visible in cracks mainly as stomatocytes, as well as, in the thinner areas, negative replicas at the thin-crack bottoms and moon-like shapes at the smear boundaries. All these morphologies were found to be time-independent, and furthermore those erythrocyte acme-zones with packed RBC to be thick-bloodstain characteristic. Thus, these findings would indicate which RBC traits may be expected to find out in thick bloodstains on stone tools.

Keywords: Scanning electron microscopy, organic residues, haemotaphonomy, prehistory, experimental archaeology.

Introduction

Since a long time ago, the presence of morphologically preserved mammalian erythrocytes (red blood cells, RBC), as forming part of bloodstains, has been detected in prehistoric implements (Loy 1983). This preservation has been even reported for assigned *ca.* 2-Myr-old Oldowan tools (Loy 1998). A smear may be defined as the result of a causal relationship, in which a physical contact (the cause) produces a trace (the effect). This causality -implicit in the Locard's Principle of Exchange, that is usually summarised as 'every contact leaves traces'- agrees with such a presence of blood residues on (ancient) archaeological tools, as well as on (modern) forensic-evidence implements.

Vertebrate blood is a suspension of cells (erythrocytes, leukocytes or white blood cells, and thrombocytes or platelets) in a fluid medium (plasma). Unlike in the other vertebrates, in mammals erythrocytes are anucleate (Jain 1986: 527). Due to this lack of nucleus, the typical mammalian RBC are shaped as biconcave discs (discocytes). Based on scanning electron

microscope stereo micrographs, it has been found that the normal-sized erythrocytes (normocytes) in humans have a mean diameter of $7.49 \mu\text{m}$ (LeBlond & Shoucri 1978). According with Lewis (1970: 19), the normal value of erythrocyte count ($\text{RBC}\cdot\text{L}^{-1}$) in human whole blood averages $5.4\cdot 10^{12}$ in males and $4.8\cdot 10^{12}$ in females.

The presence of RBC in a smear is evidence for blood (López 1953: 19-22; Fiori 1962: 246-7), and an appropriate instrument for the microstructural characterisation of materials is the scanning electron microscope (SEM). Moreover, from the point of view of blood confirmation in ancient smears, SEM facilities are usually more available than molecular biology laboratories to either palaeobiologists and bioarchaeologists.

Actuopalaeontology and experimental archaeology are both based upon the Lyell's Principle of Actualism, which is usually summarised as 'the present is the key to the past'. Therefore, and because an experimental framework is necessary to all palaeosciences, I have been studying via SEM the variations in RBC morphology in bloodstains on either lithic and non-lithic substrates. In a previous paper, I yet reported several morphologies of preserved human RBC in mainly thin and ultrathin aged bloodstains on chert, stainless steel and graywacke (Hortolà 1992a). In this paper, I report a systematical SEM study of human RBC in thick bloodstains on the same type of chert, a lithic material of main interest to prehistoric technology.

Materials and methods

Several thick smears of human blood from the same individual were obtained at one time on the fracture surface of white chert fragments from the same source. Chert was selected as bloodstain substrate due to be considered as one of the rocks preferred by prehistoric man as material for stone tools (Semenov 1964: 34-5). After puncture of the left-hand forefinger with a sterile surgical blade, smearing was carried out by the mechanism of 'precipitation' (gravitational dribbling) from a small height ($h \approx 2\cdot 10^{-2} \text{ m}$) while the blood extravasation was mechanically forced by finger pressure. The bloodstains were then dried in the sun at the open air without wind during 3 hours, and, finally, they were stored indoors under non-sterile and fluctuating room conditions, for increasing lengths of time ranging from 1 to 36 months (TABLE). Confirmation of the smear as being thick was done on the basis of presence of raised plaques with polygonal macrocracking. Diachronically, each sample was coated with gold by a SEM Coating Unit E 5000 sputter coater (Polaron Equipment Ltd., Watford, U.K.), and then

examined by a Stereoscan 120 scanning electron microscope (Cambridge Instruments Ltd., Cambridge, U.K.) at a low accelerating voltage (10 kV) to decrease electrostatic charge. Micrographs were obtained using a (high-sensibility) T-max 400 ISO professional film (Kodak Ltd., Hemel Hempstead, U.K.).

Results and discussion

A high inter-sample uniformity at both the macromorphological and the micromorphological level was revealed.

Concerning the whole bloodstains, from the naked eye -either before and after gold coating- to low SEM magnification, they displayed the typical aspect of crack-individualised arisen scales (FIGURE 1); the observed variability in smear pattern would be originated by individual differences between each smear-substrate topography. Moreover, at the naked eye -after gold coating- the whole bloodstains clearly evidenced two distinguishable areas: a central depression, and a medial elevation surrounding it. By using the SEM, discrimination between these two areas was difficult; however, at high SEM magnification a third area -not clearly distinguishable at the naked eye- was detected: a peripheral depression external to the medial elevation. Such a three-area bloodstain structure agrees with previous optical microscopy observations of experimental blood smears (Balthazard *et al.* 1939, cited in López 1953: 9-16).

Concerning the RBC, at high SEM magnification they displayed the following morphological characteristics. An erythrocyte acme-zone with packed RBC, visible in the cracks mainly as cup-shaped cells (stomatocytes), was evidenced in the (central and medial) thicker areas (FIGURE 2). Out of these areas, in the (peripheral) thinner ones, two different morphologies, as exemplified in the remainder illustrations, were evidenced: negative replicas at the thin-crack bottoms (FIGURE 3), and moon-like shapes at the smear boundaries (FIGURE 4). In these moon-like shapes, a wide range of RBC visible diameter was clearly evidenced (FIGURE 4, 1M vs. 24M); from experience, this high size variability is not related with ageing but with bloodstain drying phenomena.

Negative replicas and moon-like shapes were analogous to those previously observed in either primarily (stone-knapping accidental, experimental) or secondarily (forensic) thin/ultrathin samples (Hortolà 1992a; Hortolà 1992b; Hortolà 1994; Hortolà submitted for

publication) and thus, because they share presence in both thick and thin/ultrathin bloodstains, they may not be considered as thick-bloodstain characteristic.

By storing the samples indoors, the microclimatic variations were softened in order to simulate 'natural-like' environmental conditions similar to those which could be found in a cave. Although there were microclimatic differences between the samples aged less than 18 months, the fact that the temperature and relative humidity ranges for the samples from 18-36 months were the same (temperature range = 11-34°C, relative humidity range = 38-84%) permits to consider that the environmental conditions between these samples have been nearly homogeneous. Furthermore, provided that all the smears were obtained at one time from blood of the same individual and on the same type of substrate, it may be considered that in such samples only the time factor has significantly varied.

Whereas the burial of a sample provides a greater similitude to final taphonomical conditions, the unburied storage permits a more accurate evaluation of the possible influence of the meteorological variables on the diagenetical changes of a biological sample. At the same time, it permits a full watching of the sample evolution, minimising the possibility of cytomorphological misinterpretations when microscopical examination. Furthermore, assuming that burial provides a more favourable environment for bloodstain preservation (Loy 1983), these unburial conditions are intended as some of those less favourable to this smear preservation, similar to the conditions which would affect to a pre-buried archaeological bloodstain.

Conclusions

At least moderate exposure to ultraviolet light from the sun and to air do not appear to be critical in the preservation of human RBC in bloodstains on stone. This is consistent with other previous observations, where non-human, artiodactyl bloodstain exposure to both sun and air was also done (Hortolà 1992b; Hortolà submitted for publication), and it does not with the previous statement that these factors lyse most of the RBC in a bloodstain (Loy 1983).

Moreover, provided that moon-like shapes and negative replicas are not found in physiological conditions, they are interpreted as two bloodstain-characteristic RBC morphologies, which would be due, respectively, to erythrocyte-plasma interaction when drying and to moulding by dried plasma matrix. Such RBC acme-zones visible in the thick-

smear cracks mainly as stomatocytes demonstrated to be time-independent, as were the smear-common negative replicas and moon-like shapes.

Prehistoric human bloodstains could mainly be originated by accidental slicing when stone tool manufacturing (Bahn 1987; Loy & Wood 1989). However, since indicia or even evidences of hominid cannibalism have been found (e.g., Defleur *et al.* 1999; Fernández-Jalvo *et al.* 1999; Marlar *et al.* 2000), the answer to the question on which characteristic RBC shapes may be expected in the presence of a thick bloodstain on a stone tool when such indicia or evidences are pointed out has clear applications to the knowledge of this aspect of hominid behaviour, and represents a link between lithic analysis and hominid palaeoethology.

Acknowledgements

Grateful acknowledgement to the Scientific-Technical Services of the University of Barcelona the use of its electron microscopy facility. This paper has been drawn up while the support of both a fellowship (DGESIC No. ACP1999-0177) and a project grant (DIGICYT No. PB-96-1026-C03-02) from the Spanish Government, and a grant (CIRIT No. 1999SGR00181) from the Catalan one (Commonwealth of Catalonia).

References

- BAHN, P. G. 1987. Getting blood from stone tools. *Nature* 330: 14.
- DEFLEUR, A., T. WHITE, P. VALENSI, L. SLIMAK & É. CRÉGUT-BONNOURE. 1999. Neanderthal cannibalism at Moula-Guercy, Ardèche, France. *Science* 286: 128-31.
- FERNÁNDEZ-JALVO, Y., J. C. DÍEZ, I. CÁCERES & J. ROSELL. 1999. Human cannibalism in the Early Pleistocene of Europe (Gran Dolina, Sierra de Atapuerca, Burgos, Spain). *Journal of Human Evolution* 37: 591-622.
- FIORI, A. 1962. Detection and identification of bloodstains, in F. Lundquist (ed.), *Methods of Forensic Science* (vol. 1): 243-290. New York-London: John Wiley & Sons.
- HORTOLÀ, P. 1992a. SEM analysis of red blood cells in aged human bloodstains. *Forensic Science International* 55: 139-59.
- HORTOLÀ, P. 1992b. SEM characterization of blood stains on stone tools. *The Microscope* 40 (2): 111-3. 'Errata' in *The Microscope* 40 (3): vi.
- HORTOLÀ, P. 1994. Application of SEM to the study of red blood cells in forensic bloodstains. *Microscopy & Analysis* (U.K. Edition) 40: 19 & 21 - *Microscopy & Analysis* (European Edition) 28: 21 & 23.
- HORTOLÀ, P. Submitted for publication. Experimental SEM determination of game mammalian bloodstains on stone tools.
- JAIN, N. C. 1986. *Schalm's Veterinary Hematology*, 4th. ed. Philadelphia: Lea & Febiger.
- LEBLOND, P. F. & R. SHOUCRI. 1978. Calculation of surface area and volume of human erythrocytes from scanning electron micrographs. *Journal of Microscopy* 113: 161-70.
- LEWIS, A. E. 1970. *Principles of Hematology*. London: Butterworths.
- LÓPEZ, L. 1953. *Técnica Médico-Legal* (vol. 1). Valencia: Saber.
- LOY, T. H. 1983. Prehistoric blood residues: detection on tool surfaces and identification of species of origin. *Science* 220: 1269-71.
- LOY, T. H. 1998. Organic residues on Oldowan tools from Sterkfontein Cave, South Africa, in M. A. Raath, H. Soodyall, K. L. K. D. Barkhan & P. V. Tobias (eds.), *Dual Congress of the International Association for the Study of Human Paleontology, and International Association of Human Biologists*: 74-5. Johannesburg: Department of Anatomical Sciences, University of the Witwatersrand Medical School.
- LOY, T. H. & A. R. WOOD. 1989. Blood residue analysis at Çayönü Tepesi, Turkey. *Journal of Field Archaeology* 16: 451-60.

MARLAR, R. A., B. L. LEONARD, B. R. BILLMAN, P. M. LAMBERT & J. E. MARLAR.

2000. Biochemical evidence of cannibalism at a prehistoric Puebloan site in southwestern Colorado. *Nature* 407: 74-8.

SEMENOV, S. A. 1964. *Prehistoric Technology. An experimental study of the oldest tools and artefacts from traces of manufacture and wear*. Translated, and with a preface by M. W. Thompson. London: Cory, Adams & Mackay. First published in Russian in the USSR in 1957.

Table

BS	t _m (°C)	t _M (°C)	RH _m (%)	RH _M (%)
1	27	31	39	46.5
2	27	32.5	38	56
3	25	32.5	38	70
6	12	32.5	38	81
12	11	32.5	38	83
18	11	34	38	84
24	11	34	38	84
36	11	34	38	84

TABLE. Microclimatic conditions of the storage room, per bloodstain sample. Values according with measurements taken at different hours, on an average of every 3 days except for the 1 month sample, whose average was every 2 days. Legend: BS = bloodstain sample, according to its age in months; M = maximum; m = minimum; RH (%) = relative humidity, in percent; t (°C) = temperature, in degrees Celsius.

Captions for figures

FIGURE 1a. *Aspect at low magnification of the whole bloodstains. Typical arisen scales, individualised by cracks, may be seen. Samples according to their age in months (M).*

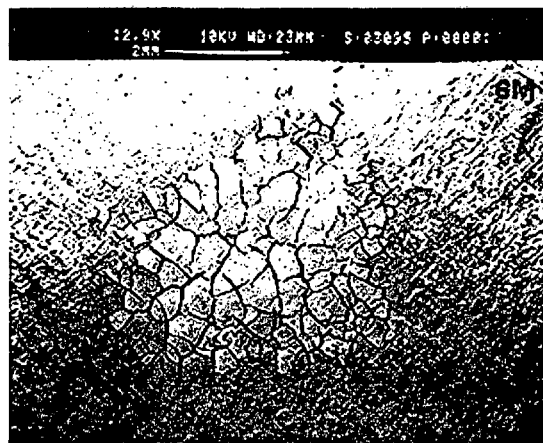
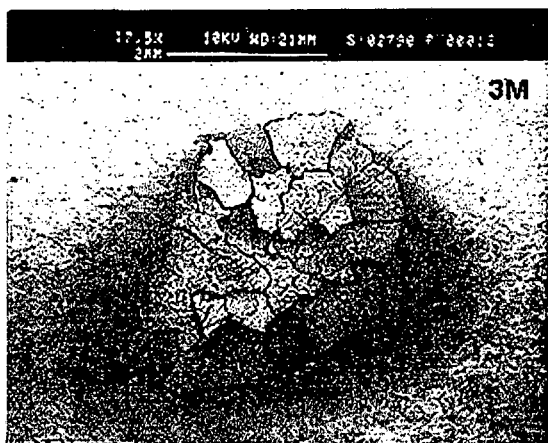
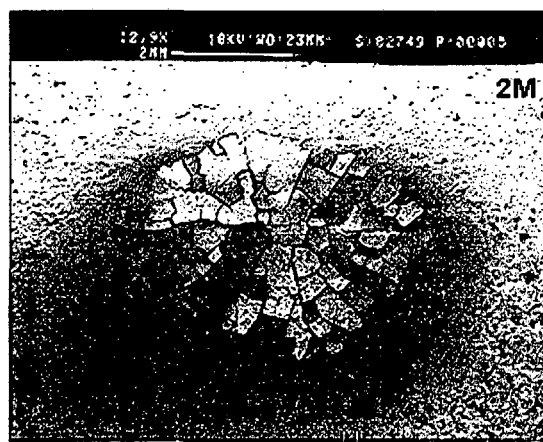
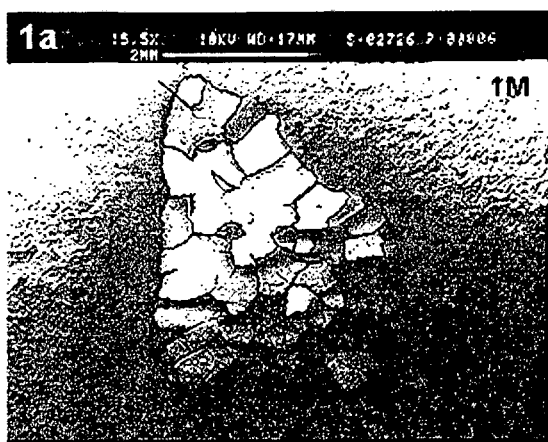
FIGURE 1b. *Aspect at low magnification of the whole bloodstains (continuation). Comments as in FIGURE 1a.*

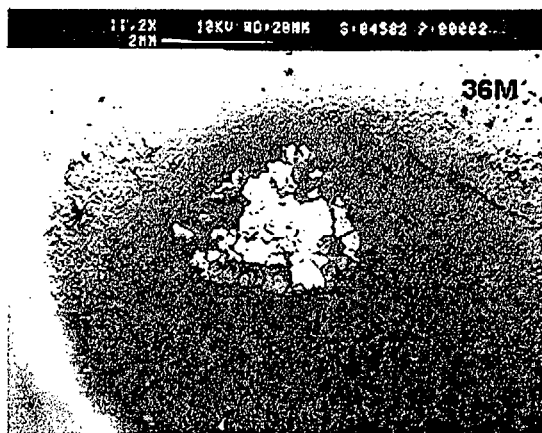
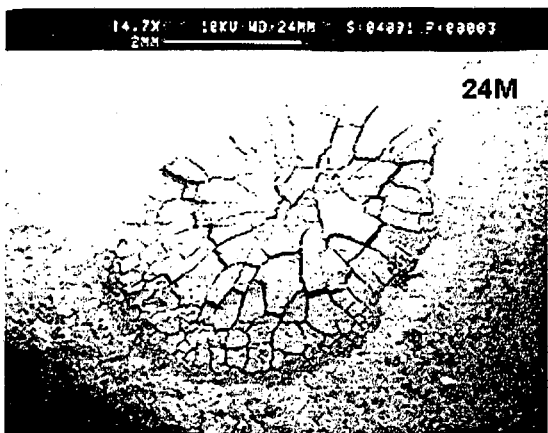
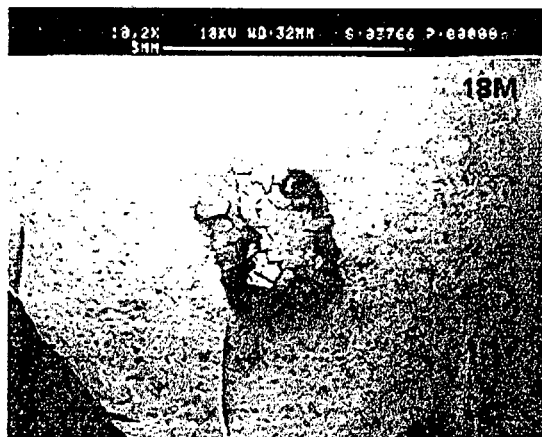
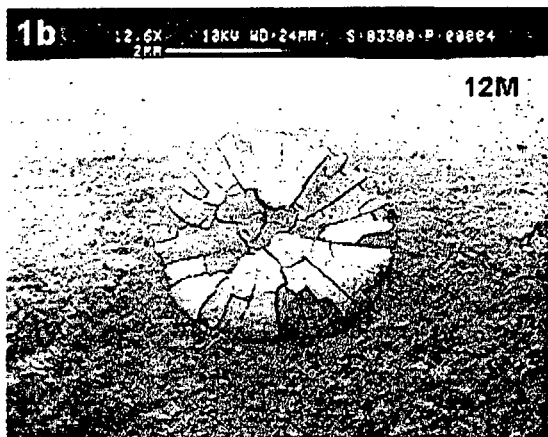
FIGURE 2a. *RBC acme-zones with packed erythrocytes in the central and medial smear cracks. In these structures, RBC mainly attained the stomatocyte morphology. Samples according to their age in months (M).*

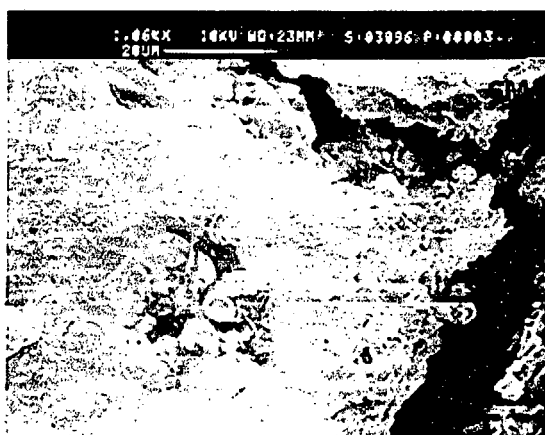
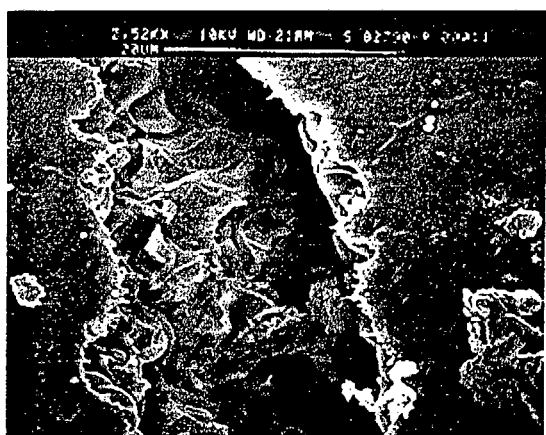
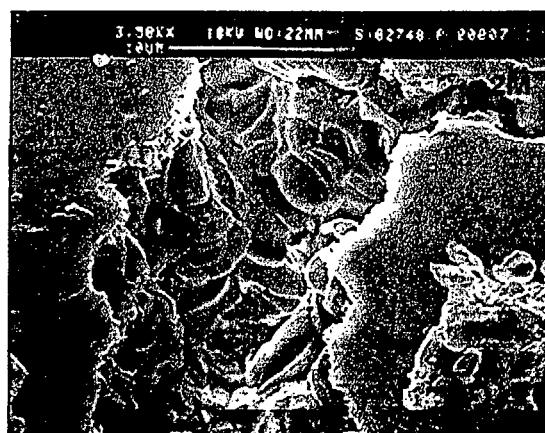
FIGURE 2b. *RBC acme-zones with packed erythrocytes in the central and medial smear cracks (continuation). Comments as in FIGURE 2a.*

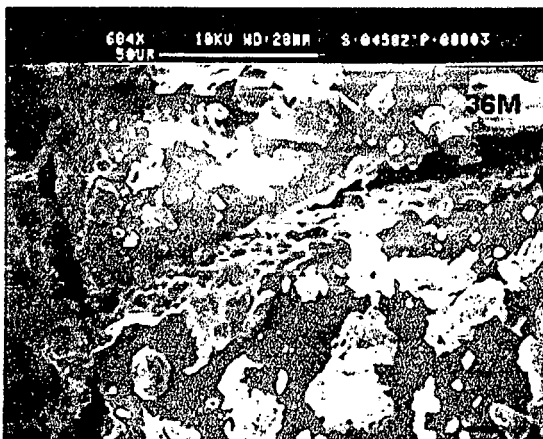
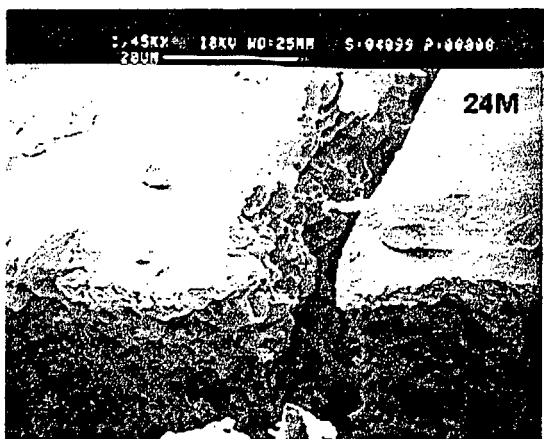
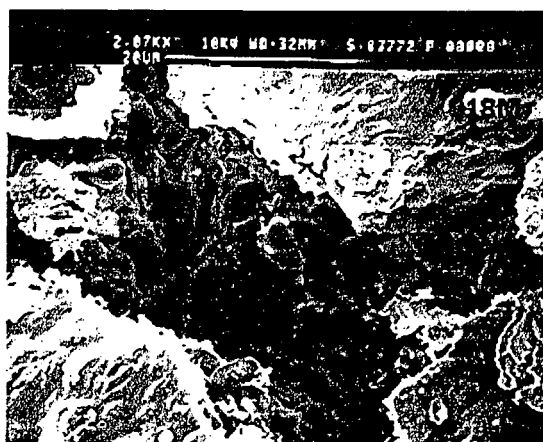
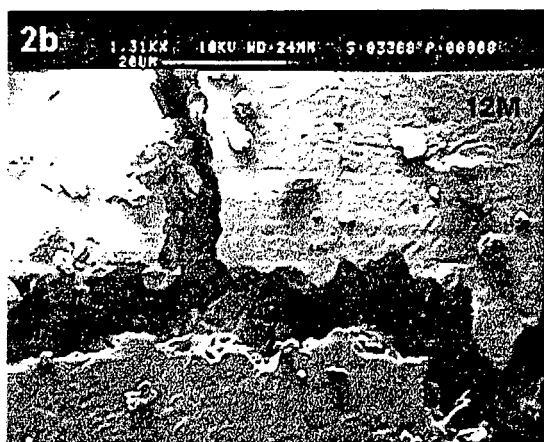
FIGURE 3. *Examples of negative replicas at the bottom of thin cracks, in the smear periphery. Samples according to their age in months (M).*

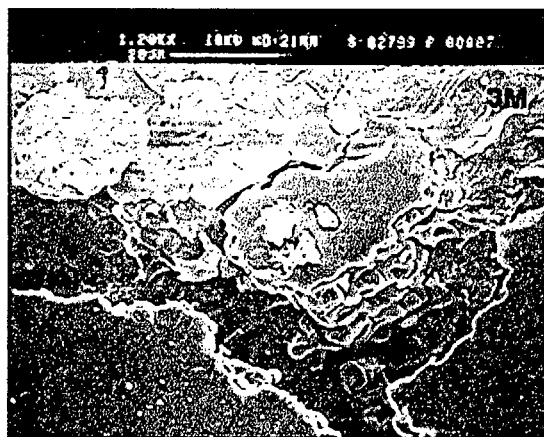
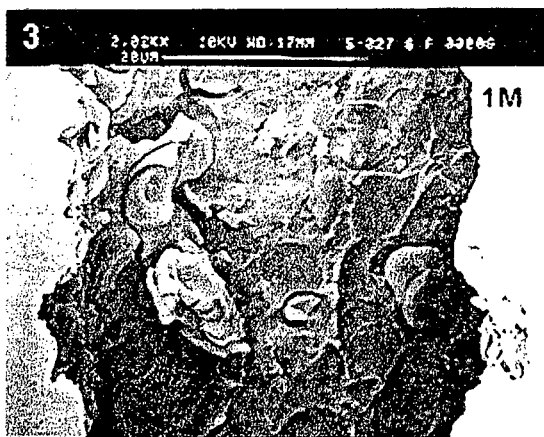
FIGURE 4. *Examples of moon-like shapes in the (peripheral) smear boundaries. The white lines in 1M and 24M confine two moon-like shapes which evidence the wide range of RBC size variability that can be found in a bloodstain. Samples according to their age in months (M).*

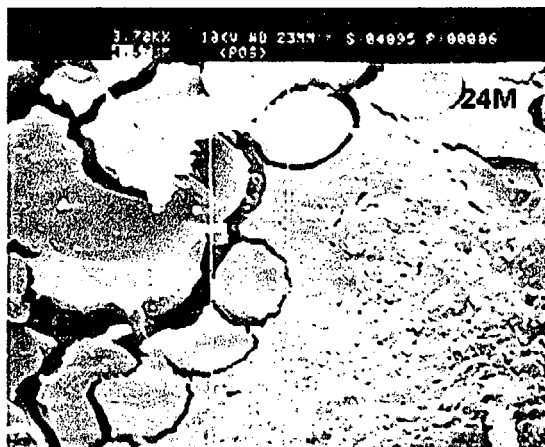
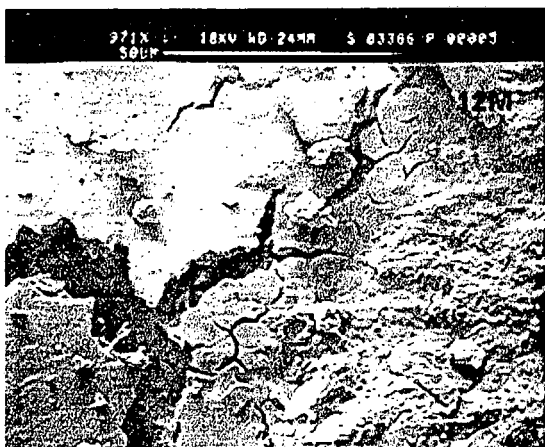
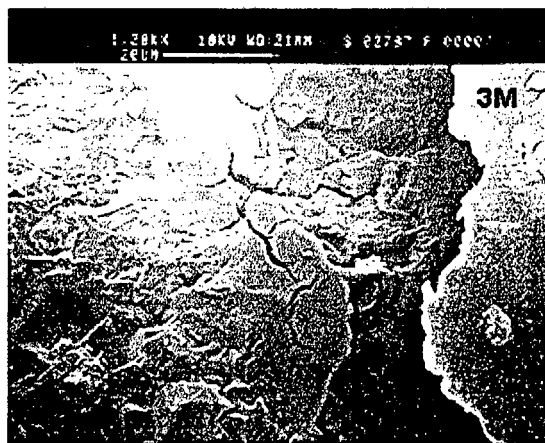
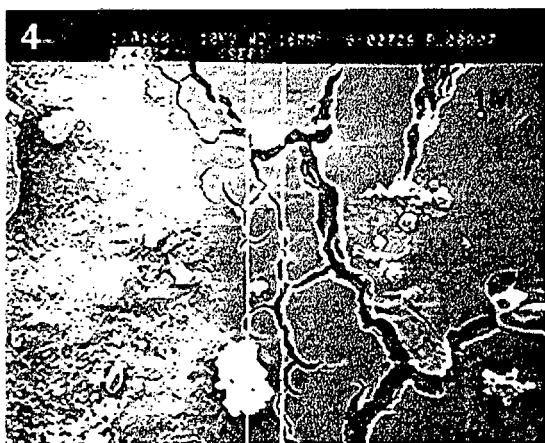












6.1.2. Traducción del inglés

Caracterización morfológica de glóbulos rojos de la sangre en manchas de sangre humana sobre piedra: estudio sistemático por MEB

Resumen

Se ha informado anteriormente de eritrocitos o glóbulos rojos de la sangre (GRS) de mamífero formando parte de residuos sobre implementos prehistóricos atribuidos a ser de tan lejos como unos dos millones de años. En base al Principio del Actualismo, se obtuvieron varias manchas gruesas de sangre humana sobre sílex, y entonces se mantuvieron en una sala inestéril bajo condiciones fluctuantes microclimáticamente no manipuladas. Después de transcurros de tiempo de mantenimiento crecientes (desde 1-36 meses), las manchas de sangre fueron recubiertas con oro y examinadas a un voltaje de aceleración de 10 kV con un microscopio electrónico de barrido Cambridge Stereoscan 120. Los resultados revelaron en todas las manchas la presencia, en las áreas más gruesas, de una zona de apogeo eritrocitario con GRS empaquetados, visibles en fracturas principalmente como estomatocitos, así como, en las áreas más delgadas, réplicas negativas en los fondos de fracturas delgadas y formas lunoides en los lindes de mancha. Todas estas morfologías se hallaron ser independientes del tiempo, y además aquellas zonas de apogeo eritrocitario con GRS empaquetados ser características de mancha de sangre gruesa. Así, estos hallazgos indicarían qué rasgos de GRS pueden esperarse encontrar en manchas de sangre gruesas sobre herramientas de piedra.

Palabras clave: Microscopia Electrónica de Barrido, residuos orgánicos, Hemotafonomía, Prehistoria, Arqueología Experimental.

Introducción

Desde hace mucho tiempo, se ha detectado en implementos prehistóricos la presencia de eritrocitos (glóbulos rojos de la sangre, GRS) de mamífero morfológicamente conservados, formando parte de manchas de sangre (Loy 1983). Esta conservación ha sido incluso informada para herramientas olduvaienses asignadas a *ca.* 2 Ma de antigüedad (Loy 1998). Una mancha puede definirse como el resultado de una relación causal, en que un contacto físico (la causa) produce una huella (el efecto). Esta causalidad -implícita en el Principio de

Intercambio de Locard, que se resume comúnmente como 'todo contacto deja huellas'-concuera con tal presencia de residuos de sangre sobre herramientas arqueológicas (antiguas), así como sobre implementos forenses (modernos).

La sangre de vertebrado es una suspensión de células (eritrocitos, leucocitos o glóbulos blancos de la sangre, y trombocitos o plaquetas) en un medio fluido (plasma). A diferencia de en los otros vertebrados, en los mamíferos los eritrocitos son anucleados (Jain 1986: 527). Debido a esta carencia de núcleo, los GRS típicos de mamífero tienen forma de discos bicóncavos (discocitos). En base a estereomicrografías de microscopio electrónico de barrido, se ha hallado que los eritrocitos de tamaño normal (normocitos) en humanos tienen un diámetro medio de 7,49 μm (LeBlond & Shoucri 1978). Según Lewis (1970: 19), el valor normal del recuento eritrocitario ($\text{GRS} \cdot \text{L}^{-1}$) en sangre entera humana promedia $5,4 \cdot 10^{12}$ en varones y $4,8 \cdot 10^{12}$ en mujeres.

La presencia de GRS en una mancha es evidencia de sangre (López 1953: 19-22; Fiori 1962: 246-7), y un instrumento apropiado para la caracterización microestructural de materiales es el microscopio electrónico de barrido (MEB). Además, desde el punto de vista de confirmación de sangre en manchas antiguas, las instalaciones de MEB están comúnmente más a disposición de paleobiólogos y bioarqueólogos que los laboratorios de Biología Molecular.

La Actuopaleontología y la Arqueología Experimental se basan en el Principio del Actualismo de Lyell, que se resume comúnmente como 'el presente es la clave del pasado'. Por lo tanto, y puesto que es necesaria en toda paleociencia una estructura experimental, he estado estudiando por medio de MEB las variaciones en morfología de los GRS en manchas de sangre sobre substratos líticos y no líticos. En un artículo anterior, ya informé de varias morfologías de GRS humanos conservados en manchas viejas de sangre principalmente delgadas y ultradelgadas sobre sílex, acero inoxidable y grauvaca (Hortolà 1992a). En este artículo, informo de un estudio sistemático por MEB de GRS humanos en manchas gruesas de sangre sobre el mismo tipo de sílex, un material lítico de principal interés para la tecnología prehistórica.

Materiales y métodos

Se obtuvieron a un de tiempo varias manchas gruesas de sangre humana del mismo individuo sobre el superficie de fractura de fragmentos de sílex blanco de la misma fuente. El

silix se seleccionó como substrato de mancha de sangre debido a considerarse como una de las rocas preferidas como material para herramientas de piedra por el hombre prehistórico (Semenov 1964: 34-5). Después de punción del dedo índice de la mano izquierda con una cuchilla quirúrgica estéril, el manchado fue efectuada por el mecanismo de 'precipitación' (goteo gravitacional) desde una altura pequeña ($h \approx 2 \cdot 10^{-2}$ m) mientras que el extravasado de la sangre fue forzado mecánicamente por presión del dedo. El manchas de sangre se secaron entonces al sol al aire libre sin viento durante 3 horas, y, finalmente, se mantuvieron en interior bajo condiciones de sala no estériles y fluctuantes, por transcurso de tiempo de crecientes abarcando desde 1 a 36 meses (TABLA). La confirmación de la mancha como gruesa se hizo en base a la presencia de placas elevadas con macrofractura poligonal. Diacrónicamente, cada muestra se recubrió con oro por una unidad de recubrimiento de MEB E 5000 (Polaron Equipment Ltd., Watford, Reino Unido), y entonces se examinó con un microscopio electrónico de barrido Stereoscan 120 (Cambridge Instruments Ltd., Cambridge, Reino Unido) a un voltaje de aceleración bajo (10 kV) para disminuir la carga electrostática. Las micrografías se obtuvieron usando una película profesional (de alta sensibilidad) T-max 400 ISO (Kodak Ltd., Hemel Hempstead, Reino Unido).

Resultados y discusión

Se reveló una alta uniformidad intermuestral a nivel macromorfológico y micromorfológico.

En lo que concierne a las manchas de sangre enteras, desde a simple vista -antes y después del recubrimiento de oro- hasta a bajo aumento de MEB, mostraron el aspecto típico de escamas elevadas individualizadas por fracturas (FIGURA 1); la variabilidad observada en el patrón de mancha se originaría por diferencias individuales entre cada topografía del substrato de mancha. Además, a simple vista -después del recubrimiento de oro- las manchas de sangre enteras evidenciaron claramente dos áreas discernibles: una depresión central, y una elevación medial circundándola. Utilizando el MEB, la discriminación entre estas dos áreas fue difícil; sin embargo, a alto aumento de MEB se detectó una tercera área -no discernible claramente a simple vista-: una depresión periférica externa a la elevación medial. Tal estructura de mancha de sangre en tres áreas concuerda con previas observaciones de manchas de sangre experimentales por Microscopia Óptica (Balthazard *et al.* 1939, citado en López 1953: 9-16).

En lo que concierne a los GRS, a alto aumento de MEB mostraron las siguientes características morfológicas. Una zona de apogeo eritrocitario con GRS empaquetados, visible en las fracturas principalmente como células en forma de copa (estomatocitos), se evidenció en las áreas más gruesas (central y medial) (FIGURA 2). Fuera de estas áreas, en las más delgadas (periféricas), se evidenciaron dos morfologías diferentes, como se ejemplifica en las restantes ilustraciones: réplicas negativas en los fondos de fracturas delgadas (FIGURA 3), y formas lunoides en los lindes de mancha.(FIGURA 4). En estas formas lunoides, se evidenció claramente una amplia gama de diámetro visible de GRS (FIGURA 4, 1M vs. 24M); desde la experiencia, esta alta variabilidad de tamaño no está relacionada con el envejecimiento sino con los fenómenos de secado de la mancha de sangre.

Réplicas negativas y formas lunoides fueron análogas a las anteriormente observadas en muestras primariamente (accidental por talla de piedra, experimental) o secundariamente (forense) delgadas/ultradelgadas (Hortolà 1992a; Hortolà 1992b; Hortolà 1994; Hortolà sometido para su publicación) y así, puesto que comparten presencia en manchas de sangre gruesas y delgadas/ultradelgadas, no pueden considerarse como características de mancha de sangre gruesa.

Manteniendo las muestras en interior, las variaciones microclimáticas se suavizaron a fin de simular condiciones ambientales 'como naturales' parecidas a las que podrían encontrarse en una cueva. Aunque hubo diferencias microclimáticas entre las muestras envejecidas menos de 18 meses, el hecho que los rangos de temperatura y humedad relativa para las muestras de 18-36 meses fueron los mismos (rango de temperatura = 11-34°C, rango de humedad relativa = 38-84%) permite considerar que las condiciones ambientales entre estas muestras han sido aproximadamente homogéneas. Además, estipulado que todas las manchas se obtuvieron a un tiempo de sangre del mismo individuo y sobre el mismo tipo de substrato, puede considerarse que en tales muestras solamente el factor de tiempo ha variado significativamente.

Mientras que el entierro de una muestra provee una mayor similitud a las condiciones tafonómicas finales, el mantenimiento insepulto permite una evaluación más precisa de la posible influencia de las variables meteorológicas sobre los cambios diagenéticos de una muestra biológica. A la vez, permite una vigilancia total de la evolución de la muestra, minimizando la posibilidad de malas interpretaciones citomorfológicas a la hora del examen microscópico. Además, dado que el entierro provee un ambiente más favorable para la

conservación de manchas de sangre (Loy 1983), estas condiciones no enterradas se entienden como de las menos favorables para esta conservación, parecidas a las condiciones que afectarían a una mancha de sangre arqueológica pre-enterrada.

Conclusiones

Al menos la exposición moderada a la luz ultravioleta del sol y al aire no aparece ser crítica en la conservación de GRS humanos en manchas de sangre sobre piedra. Esto es consistente con otras observaciones previas, donde se realizó también una exposición de mancha de sangre no humana, de artiodáctilo, al sol y aire (Hortolà 1992b; Hortolà sometido para su publicación), y no lo es con la declaración previa que estos factores lisan la mayoría de los GRS en un mancha de sangre (Loy 1983).

Además, puesto que las formas lunoides y las réplicas negativas no se encuentran en condiciones fisiológicas, éstas se interpretan como dos morfologías de GRS características de mancha de sangre, que serían debidas, respectivamente, a la interacción eritrocito-plasma al secarse y al moldeado por la matriz seca de plasma. Las tales zonas de apogeo de GRS visibles en las fracturas de mancha gruesa principalmente como estomatocitos demostraron ser independientes del tiempo, como lo fueron las réplicas negativas y formas lunoides comunes en manchas.

Las manchas de sangre humana prehistóricas podrían principalmente originarse por cortes accidentales al manufacturar herramientas de piedra (Bahn 1987; Loy & Wood 1989). Sin embargo, puesto se han hallado indicios o incluso evidencias de canibalismo homínido (p. ej., Defleur *et al.* 1999; Fernández-Jalvo *et al.* 1999; Marlar *et al.* 2000), la respuesta a la pregunta de qué formas de GRS características pueden esperarse en presencia de una mancha de sangre gruesa sobre una herramienta de piedra cuando se apuntan tales indicios o evidencias tiene claras aplicaciones al conocimiento de este aspecto del comportamiento homínido, y representa un nexo entre el análisis lítico y la Paleoetología Homínida.

Agradecimientos

Agradecido reconocimiento a los Servicios Científico-Técnicos de la Universidad de Barcelona por el uso de su instalación de Microscopia Electrónica. Este artículo ha sido redactado durante el apoyo de una beca (DGESIC No. ACP1999-0177) y un proyecto

subvencionado (DIGICYT No. PB-96-1026-C03-02) del gobierno español, y una subvención (CIRIT No. 1999SGR00181) del catalán (Generalidad de Cataluña).

Tabla

MS	t_m (°C)	t_M (°C)	HR _m (%)	HR _M (%)
1	27	31	39	46,5
2	27	32,5	38	56
3	25	32,5	38	70
6	12	32,5	38	81
12	11	32,5	38	83
18	11	34	38	84
24	11	34	38	84
36	11	34	38	84

TABLA. *Condiciones microclimáticas de la sala de mantenimiento, por muestra de mancha de sangre. Valores de acuerdo con medidas tomadas a diferentes horas, a un promedio de cada 3 días excepto para la muestra de 1 mes, cuyo promedio fue de cada 2 días. Leyenda: HR (%) = humedad relativa, en tanto por ciento; MS = muestra de mancha de sangre, según su edad en meses; M = máximo; m = mínimo; t (°C) = temperatura, en grados Celsius.*

Texto de las figuras

FIGURA 1a. *Aspecto a bajo aumento de las manchas de sangre enteras. Pueden verse típicas escamas elevadas, individualizadas por fracturas. Muestras según su edad en meses (M).*

FIGURA 1b. *Aspecto a bajo aumento de las manchas de sangre enteras (continuación). Comentarios como en la FIGURA 1a.*

FIGURA 2a. *Zonas de apogeo de GRS con eritrocitos empaquetados en las fracturas de mancha medial y central. En estas estructuras, los GRS alcanzaron principalmente la morfología de estomatocito. Muestras según su edad en meses (M).*

FIGURA 2b. *Zonas de apogeo de GRS con eritrocitos empaquetados en las fracturas de mancha medial y central (continuación). Comentarios como en la FIGURA 2a.*

FIGURA 3. *Ejemplos de réplicas negativas en el fondo de fracturas delgadas, en la periferia de la mancha. Muestras según su edad en meses (M).*

FIGURA 4. *Ejemplos de formas lunoides en los lindes (periféricos) de la mancha. Las líneas blancas en 1M y 24M confinan dos formas lunoides que evidencian el amplio rango de la variabilidad de tamaño de GBS que puede encontrarse en un mancha de sangre. Muestras según su edad en meses (M).*

6.2. Red blood cell haemotaphonomy of experimental human bloodstains on technoprehistoric lithic raw materials

Policarp Hortolà

6.2.1. Original

Abstract

Mammalian erythrocytes or red blood cells (RBC) -whose presence in a smear is a blood evidence- have been previously reported as forming part of residues on prehistoric implements assigned to be as far as around two million years old. On the basis of the Principle of Actualism, bloodstains from human individuals were obtained on obsidian, limestone and chert, and then stored in a unsterile room under microclimatically unmanipulated fluctuating conditions, for lengths of time ranging from 7 years, 6 months to 10 years, 2 months. Afterwards, the bloodstains were doubly coated with carbon and gold and then examined by a JEOL JSM-6400 scanning electron microscope (SEM). Results revealed a high preservation of erythrocyte integrity, with several shapes as those found under physiological conditions and a significant presence of moon-like shapes plus a minor one of negative replicas, two morphologies that are interpreted as specifically related to blood drying phenomena. These results agree with several previously reported SEM analyses of younger mammalian bloodstains on chert and materials other than obsidian and limestone, and lead to consider the moon-like shapes (hecatocytes, a term *ex novo*) and negative replicas (janocytes, another term *ex novo*) as the genuine RBC morphologies characteristic of (at least mammalian) bloodstains.

Keywords: RED BLOOD CELLS, BLOODSTAINS, SCANNING ELECTRON MICROSCOPY, PREHISTORY, ACTUOPALAEONTOLOGY, EXPERIMENTAL ARCHAEOLOGY, HAEMOTAPHONOMY.

Introduction

The presence of morphologically preserved mammalian erythrocytes or red blood cells (RBC) as forming part of smears has been previously revealed in prehistoric implements (e.g. Loy, 1983; Loy & Hardy, 1992; Loy & Dixon, 1998); such a preservation has been even reported in assigned *ca.* 2-Myr-old Oldowan tools (Loy, 1998). Furthermore, mammalian RBC have also been identified in prehistoric immovable items, such as an early Holocene building, containing anucleate RBC, human IgG and both human and non-human Hb on a stone slab (Loy & Wood, 1989).

The presence of all kind of residues on implements agrees with the criminalistic well-known Locard's Principle of Exchange ('every contact leaves traces'). That is to say, when any two

objects come into contact there is always a transfer of material from each object on to the other (Nickolls, 1962). While the transfer activities for non-human prehistoric bloodstains on stone tools would be centred in game hunting and butchery, those ones for human blood smears would potentially encompass a wider range of items, including stone tool manufacturing, assaults, surgery, rituals (burial dismemberment, sacrifice, mutilation, scarification), and -whether ritual or not- cannibalism.

Vertebrate blood is a suspension of cells (erythrocytes, leukocytes or white blood cells, and thrombocytes or platelets) in a fluid medium (plasma). Unlike the other vertebrates, in mammals erythrocytes -and platelets, too- are anucleate (Jain, 1986). Due to this lack of nucleus, the typical mammalian RBC are shaped as biconcave discs (discocytes). In humans, the normal-sized erythrocytes (normocytes) have a mean diameter of 7.49 μm , according with SEM stereo micrographs (LeBlond & Shoucri, 1978). Because of RBC have a higher density (specific gravity) than the plasma medium in which they are suspended (Lewis, 1970; Kjeldsberg, 1993), in extravasated blood -e.g., in a recent, not yet dried smear- they tend to settle out. Moreover, several morphological changes take place along the fresh bloodstain drying. The morphological changes in mammalian RBC under null-flow conditions along the fresh bloodstain drying may be assimilate to the haemorheological ones in a low-flow state. Thus, plasma hypertonicity due to the process of blood smear drying generally leads the RBC to stereotypically respond with shape changes. These ones mainly involve, with various grades, either stomatocytic or echinocytic changes, in the route towards a spherocytic shape (Castoldi, 1981; Barnhart, Wallace & Lusher, 1983). Moreover, erythrocytes in plasma form either linear aggregates (rouleaux) which undergo secondary aggregation to form networks, or 'clump' aggregates of configuration different from that of rouleaux. At least under physiological conditions, the RBC membrane skeleton or cytoskeleton (spectrin, ankyrin, and other proteins) plays an important role on the maintenance of cell shape and elastic properties of deformability (Bennett, 1985; Chien, 1985). On the other hand, erythrocyte aggregation results from the action of long, asymmetrical plasma globulins (fibrinogen, α_2 -macroglobulin, and other proteins) which form bridges between adjacent RBC and overcome their mutual repulsion due to negative surface charges resulting primarily from sialic acid residues (Lowe, 1987); these sugar residues are a part of erythrocyte membrane glycoproteins (glycophorin A, glycophorin B, and other proteins) (Bennett, 1985). Physically, reversible aggregation is due to the van der Waals and London dispersion forces (Dintenfass, 1976).

Despite both the reported bioarchaeological RBC evidence and the fact that, in forensic analysis, the presence of RBC in a smear is considered a blood confirmation (e.g., López, 1953; Fiori, 1962; Villanueva, 1998), interest in bloodstain analysis has been largely focused on the molecular level (e.g., Quarino & Kobilinsky, 1988; Newman & Julig, 1989; Hyland *et al.*, 1990; Lowenstein, 1993; Loy & Matthaei, 1994; Tuross, Barnes & Potts, 1996). Thus, although the knowledge of the morphological characteristics of bloodstain-origin RBC has deserved some interest to current forensic scientists (Liao *et al.*, 1998), it has not deserved a sufficient one to be taken into account for bioarchaeologists, even in the case that the morphological preservation of RBC in modern aged bloodstains, together with other evidences, has been presented as a strong clue of possible survival of blood residues on archaeological materials (Newman, Ceri & Kooyman, 1996).

A great deal of current archaeological research requires of advanced instrumental techniques which facilitate some reviews and new studies dealing with presumably well-known materials. One way for *in-situ* examining bloodstains is the non-destructive technique that involves the use of the scanning electron microscope (SEM). The main features of a SEM are its high resolution for bulk objects, and its large depth of field and electron contrast (shadow-relief effect) which results in a three-dimensional appearance of the specimen image. Moreover, because of its capability of examining objects at very low magnification, SEM represents a very useful tool in either forensic and archaeological studies (Goldstein *et al.*, 1992).

Actuopalaeontology and experimental archaeology are both based upon the Lyell's Principle of Actualism ('the present is the key to the past'). According with Lyman (1994), actualistic research is presently perceived as the basis for most taphonomical and archaeological analysis and interpretation. Because of a short-time preservation of specimens is a *sine qua non* precondition to do feasible a (palaeobiological, bioarchaeological) longer one, in previous works I have reported several researches via SEM dealing with the cytomorphology of RBC in either human, human-suspected, and non-human bloodstains on lithic (chert, graywacke) and non-lithic (paper, stainless steel, urban asphalt) materials, ranging from 1 to 36 months old (Hortolà, 1992a; Hortolà, 1992b; Hortolà, 1994; Hortolà, submitted for publication, a; Hortolà, submitted for publication, b). In this paper, I report the morphological SEM analysis of RBC in much older human bloodstains, on a previously reported lithic raw material as well as on two new ones, all of them of interest to prehistoric technology.

Materials and methods

Bloodstain on obsidian

On the fracture surface of an obsidian fragment, an ultrathin peripheral blood smear (area $\approx 55 \cdot 10^{-6} \text{ m}^2$) from an adult, 32-year-old female was directly gotten by the mechanism of 'contact' from the left hand thumb. After the fragment smearing, the bloodstain was dried without direct sunlight nor wind, and then stored for 7 years, 6 months.

Bloodstains on limestone

A limestone chip extracted from a cobble was smeared on its eroded surface with peripheral blood from the end of the right hand middle finger of an adult, 32-year-old male (individual #1). By the mechanism of 'precipitation' (gravitational dribbling) from a low height ($h \approx 2 \cdot 10^{-2} \text{ m}$), a thin blood smear (bloodstain #1, area $\approx 16 \cdot 10^{-6} \text{ m}^2$) was gotten, and by 'contact' two ultrathin ones (bloodstain #2, area $\approx 30 \cdot 10^{-6} \text{ m}^2$; bloodstain #3, area $\approx 12 \cdot 10^{-6} \text{ m}^2$) did get. The bloodstains were dried at the open air in the sun with no to moderate wind (gusts) during 2 hours, and, afterwards, stored for 8 years, 9 months.

Bloodstain on chert

On the fracture surface of a chert fragment, a thin peripheral blood smear (area $\approx 30 \cdot 10^{-6} \text{ m}^2$) from an adult, 28-year-old male (individual #2) was directly obtained by the mechanism of 'contact' from the border of the right hand palm close to the little finger. The smear was dried in a room without direct sunlight nor wind, and, later on, stored for 10 years, 2 months.

Smear thickness

Aprioristic discrimination of the blood smear thickness was done at the time of smearing, on the basis of: (i) presence (\Rightarrow thick) or absence (\Rightarrow thin or ultrathin) of raised plaques with polygonal macrocracking, and, if plaque absence, (ii) strong (\Rightarrow thin) or slender (\Rightarrow ultrathin) red colour. Smear colour was well distinguishable from the substrate one even in the dark obsidian fragment.

Physical properties of the substrates

The physical properties of the rock surfaces used as bloodstain substrates are displayed in Table 1.

Topography (micro-relief of the fracture surface), fissuration and colour were determined in the samples with the naked eye prior to blood smearing. Furthermore, topography of the lithic surfaces was also reviewed by examining the differences in blood colour intensity in the smeared areas; assigned topographical traits were later verified via SEM.

The remainder properties were determined for the same kind of surface in other fragments of the raw material samples, in order to avoid any possible disturbance of the surfaces to be blood smeared. Roughness and texture were determined by first tacting and then examining the lithic surfaces with a 7x field magnifier; assigned roughnesses were later verified via SEM. Degree of absorbency and permeability (hydraulic conductivity) to a standard, reference fluid was determined with distilled water (resistivity = $1 \cdot 10^6 \Omega$), at 25°C and 75%RH, by placing gently a drop on the lithic surfaces and then examining the progress of both drop geometry and soaking diameter, with the same field magnifier and a transparent microrule (precision = $\pm 5 \cdot 10^{-4}$ m) at instant 0 and 5, 10 and 15 minutes after drop placing. This test was carried out in duplicate, in two different points of each sample, and no changes, neither in the drop geometry (near-hemispherical) nor diameter ($\varnothing = 4 \cdot 10^{-3}$ m, mean value), were detected from initial to final time spans. In the determination of absorbency and permeability, water was chosen as a reference fluid because of its viscosity coefficient is lower than that of blood (Bénézech, 1962; Lowe, 1987); thus, under the same conditions, the found water absorbency and permeability values would represent those over the blood ones, due to the presence of macromolecules and cells in this biological tissue. Absorbency and permeability to blood would be, in fact, lesser to that found to water; so, in this case, it did be undetectable.

The substrate surfaces to be tested or blood smeared were handled with extreme care to prevent any contamination from fingers by fatty acids (formic, butyric, caproic) or other substances of the exocrine sweat (Bénézech, 1962), which could vary the original properties of the smear substrate and lead to make them artifactually impermeable prior to bloodstaining, or to acidify the blood next to smearing.

Storage conditions

After drying, the samples were stored under non-sterile and microclimatically unmanipulated fluctuating room conditions. The microclimatic room conditions during the sample storage time spans were estimated according to the results of meteorological measurements taken *in situ* at different hours on an average of every 3 days, during 3 consecutive years. These measurements led to place the temperature range as $11 \leq t^{\circ}\text{C} \leq 34$, and the relative humidity one as $38 \leq \%RH \leq 84$ (Table 2).

SEM procedures

After the specified storage time spans, the specimens were doubly coated with carbon and gold to increase resolution, by a SCD 004 cathodic sputter coater (BAL-TEC AG, Balzers, Liechtenstein), and then examined via secondary electrons at an accelerating voltage of 15 kV by a JSM-6400 scanning electron microscope (JEOL Ltd., Tokyo, Japan). Micrographs were obtained using a (high-sensibility) T-MAX 400 ISO professional film (KODAK Ltd., Hemel Hempstead, U.K.).

Examination process was carried out through the following steps: (i) drawing of smear shape and location as related to stone fragment, (ii) non-systematical, draw-based dynamic tracking down of the stone fragment surface at very low magnification ($x_{\text{total}} \leq 12 \cdot x_{\text{monitor}}$, where $x_{\text{monitor}} = 3.6$), in order to place the bloodstained area on the monitor, (iii) systematical dynamic tracking down throughout the smear at high magnification ($x_{\text{total}} = 1,000 \cdot x_{\text{monitor}}$), in order to specifically find out the arisen RBC morphologies, (iv) observation of static image at variable magnification ($x_{\text{total}} \cong 1,000 \cdot x_{\text{monitor}}$) in function of the erythrocyte extent to emphasise, (v) micrographing of selected static image, and (vi) re-observation of selected static image, via micrograph positive, by a 2x hand magnifier ($x_{\text{total}} = 2 \cdot x_{\text{positive}}$, where $x_{\text{positive}} = 2 \cdot x_{\text{negative}}$).

Results

Results are both displayed and explained in Figures 1-34. The main haemotaphonomical trends observed in these RBC are in agreement with those found in previous human samples (Hortolà, 1992a; Hortolà, submitted for publication, b). As observed previously, bloodstain microcracking was present in the thin smear areas and only appeared around the RBC (e.g., in the moon-like

shapes) in the ultrathin ones. The frequency of (plasma-coated) erythrocytes displaying three-dimensional morphologies was high in the thin smear areas, and moderate (tending towards moon-like shapes) in the ultrathin ones.

Discussion

Experimental bloodstains

An important fact in the morphological study of bloodstain-original erythrocytes is not the amount of examined smears, but the extension and thickness of each one, the last providing different low and high magnification trends, as stated previously (Hortolà, 1992a). Even though the amount of bloodstains presented in this paper is moderate, the existence of a large number of RBC in vertebrate blood provides the appropriate replicas for each type of blood smear. Thus, according to Lewis (1970), in human whole blood the normal value of erythrocyte count ($\text{RBC}\cdot\text{L}^{-1}$) averages $5.4\cdot 10^{12}$ in males and $4.8\cdot 10^{12}$ in females.

On the other hand, while in non-human smears blood would mainly be original from vital body parts if hunting or from any part of that if butchery, in human ones blood would mainly originate from the hands, agreeing with Bahn (1987) and Loy & Wood (1989) in the sense of easiness of slicing when stone tool manufacturing.

Microclimatic conditions

As observed previously in younger samples (Hortolà, 1992a), temperature and relative humidity do not seem to affect the general RBC preservation. Furthermore, provided that Asami & Yamaguchi (1999), in a study on the electrical and morphological changes of human RBC induced by hydrostatic pressures from $1\cdot 10^8$ to $5\cdot 10^8$ Pa, found such a shape change -from discoidal to spherical shape, presumably due to the destruction of the cytoskeleton integrity- only above $2\cdot 10^8$ Pa, natural atmospheric pressures would not affect the erythrocyte morphology. Assuming that normal atmospheric pressure at the sea level is $1.01325\cdot 10^5$ Pa ($\approx 1\cdot 10^5$ Pa), that shape-critical pressure would represent around 2,000-fold above the typical atmospheric one.

Ageing time span

Slight plasma surface fractures as those displayed in Figures 23 and 29 had not been previously found in examined younger samples at the same accelerating voltage, even at SEM magnifications about twofold this used here (e.g., Hortolà, 1992a). Therefore, those fractures might be a consequence of the ageing, which would become the plasma proteins more labile.

However, and although the effect of the ageing on the exhibited RBC shapes cannot be evaluated separately from the other factors, it seems clear that the smear ageing did not obstruct the general preservation of the RBC. In this sense, the high RBC preservation exhibited in the samples, in both this study and previous ones, seems to indicate that dried blood tissue is homologous or at least analogous to a mummified one. Therefore, it is not expected that the time parameter be determinant *per se* of the degree of bloodstain preservation, but the sedimentary environment variables.

Red blood cells

Because of the size of either free or aggregated RBC particle influence its erythrocyte sedimentation rate (ESR) (Seiverd, 1983), the view of (higher ESR) rouleau aggregates in the surface of the bloodstains as those displayed in Figures 7 and 33 might corroborate the thinness of the smear as a whole. Despite under plasma hyperviscosity -as occurs in the blood-drying process by plasma water evaporation - the increased plasma density decreases the sedimentation of aggregates, this high viscosity tends at the same time to decrease cell aggregation, since cells have to move into apposition through the suspending plasma (Lowe, 1987); thus, the rouleaux displayed in those Figures would correspond to the first occurrences of aggregation. On the other hand, the presence or absence of a wide echinocyte area may indicate, respectively, a quick or a slow drying of the concrete smeared area. Although crenated RBC may be occasionally present in circulating blood (Maclean, 1978), in a smear they are produced when this dries slowly (Seiverd, 1983). The lack of a visible fibrine network in the bloodstain may also be related to the quick drying of the bloodstain. At the same time, rouleaux by themselves mainly sequester fibrinogen in its occurrence (Lowe, 1987).

In spite of, in the preparation of clinical blood frotis, friction and surface tension lead to produce several abnormal shapes which haematologically are considered as an artifact (Bessis, 1974),

from the haemotaphonomical point of view the moon-like shapes are a non-artifactual morphology that reveal to be a characteristic and very common trend of ultrathin bloodstained areas. On the other hand, the negative replicas would arise in thicker ones.

Although Tuross, Barnes & Potts (1996), after laboratory UV irradiation exposure of blood on experimental stone tools, reported a destruction of all immunoreactivity, moderate exposure to natural UV irradiation, as that of the 8-year-9-month-old bloodstains on limestone for 2 hours, do not seem to differentially affect to the RBC morphological integrity, which is consistent with other previous observations either in human and non-human bloodstains (Hortolà, 1992b; Hortolà, submitted for publication, a; Hortolà, submitted for publication, b).

Substrate physical properties

It does not seem to be significant differences amongst the type of concrete substrate other than a lesser adherence of the bloodstain on obsidian. This fact would be related to the greater smoothness of the fracture surface in front of the grained surfaces of limestone and chert.

Colour would not be related to the cell fraction, but to a best or worse discriminating of the bloodstain as a whole, as with the naked eye as at SEM low magnification. Topography would be related with the degree of thickness homogeneity of the smear by the forming of thicker/thinner subareas and, thus, with the aspect of the cell fraction being displayed under a more/less thick plasma coating. Roughness and texture would be related with the mechanical seizing and/or breaking of the cell fraction by surface microcrystals while smearing, and with the adherence of the whole blood to substrate while drying and/or ageing. In a list of some lithic materials used by Stone Age man in the manufacture of his tools, Semenov (1964) arranged 12 raw materials, in order of increasing roughness of the fracture. From rock crystal (#1) to nephrite (#12), obsidian was assigned to #2 and chert to #7, while limestone was not included into that list. Permeability (i.e., the capability to transmit fluids, that, for a same lithic raw material, will be a function of their viscosity coefficient and hydrostatic pressure) would be related with a hiding of blood, especially the fluid fraction more than the cell one, into the substrate; this hypothetical differential hiding would provide a lesser amount of plasma matrix to protect erythrocytes and the other cell elements from degradation factors in a smear. Absorbency would be related to permeability, as well as an occurrence of fissuration would increase the degree of permeability.

From the haemotaphonomical point of view, the concrete type of (either stone or non-stone) bloodstain substrate, whether of similar physical properties, do not seem to play a dramatic role in RBC morphology. The most significant bloodstain substrate physical properties would be grouped in three categories: (i) those related with the degree of thickness homogeneity of the smear by the forming of thicker/thinner subareas (topography), (ii) those related with the mechanical seizing and/or breaking of the cell fraction by surface microcrystals while smearing, and with the adherence of the whole blood to substrate while drying and/or ageing (roughness and texture), and (iii) those related with a hiding of blood, especially the fluid fraction more than the cell one, into the substrate (permeability, its related absorbency, and permeability-influencing fissuration). According with my previous experience, such a raw material categorisation based upon physical properties is more descriptive of the limiting factors which affect RBC and bloodstains than typologies, and agrees with some issued remarks concerning raw materials in lithic use-wear analysis (Schiffer *et al.*, 1979).

Substrate chemical composition

Concerning obsidian and chert, silicon dioxide (silica, SiO₂), whether amorphous -as in obsidian- or crystallised -as in chert-, is practically insoluble in water or acids, except hydrofluoric acid (HF), and slowly attacked by heating with concentrated phosphoric acid (H₃PO₄); the amorphous forms of silica, especially when finely divided, are soluble in alkalis, while the crystallised ones are scarcely attacked by alkalis (Budavari, 1996, monograph 'Silicon Dioxide'). It has been found *in vitro* a certain degree of time-dependent morphological alteration of previously washed, isolated human RBC into particulate SiO₂ (Diociaiuti *et al.*, 1999).

Concerning limestone, crystals of calcium carbonate (CaCO₃) are practically insoluble in water and soluble in diluted acids (Budavari, 1996, monograph 'Calcium Carbonate'). It has been found both *in vivo* and *in vitro* that increased plasma calcium levels do not affect the RBC morphology (Mark *et al.*, 2000). *In vivo*, the human blood pH is closely controlled at 7.4 (Voet, Voet & Pratt, 1999), and *in vitro*, when collected in citrate phosphate dextrose anticoagulant and measured at the temperature of storage, is approximately 7.4-7.5 (Walker, 1990). Thus, normal value of human blood pH is very little alkaline, close to neutral.

Therefore, it is not expected that blood be able to dissolve the rock compounds as to do feasible a chemical influence of the substrate on the RBC morphology.

Conclusions

The results of this study agree with previously reported SEM analyses of younger mammalian bloodstains on chert, graywacke and non-stone substrates (Hortolà, 1992a; Hortolà, 1992b; Hortolà, 1994; Hortolà, submitted for publication, a; Hortolà, submitted for publication, b).

Although the largest part of the found smear-origin RBC shapes shares morphology with those described in haematology (e.g., Bessis, 1974; Castoldi, 1981; Bull & Breton-Gorius, 1995), two time-independent RBC shapes interpreted as due specifically to blood drying phenomena -and, thus, obviously not found under physiological conditions- may be considered as the genuine RBC morphologies characteristic of (at least mammalian) bloodstains: the moon-like shapes, which would be due to erythrocyte-plasma interaction when drying, and the negative replicas, that would be related to imprinting by dried plasma matrix. In such a sense, a systematics for the smear-origin mammalian RBC is suggested (Figure 35).

The finding of different RBC and plasma-matrix morphologies preserved in human bloodstains on techno-prehistoric lithic raw materials has clear applications to both hominid palaeoethology and lithic analysis, specially when other indicia or even evidences of prehistoric cannibalism may be present (e.g., Defleur *et al.*, 1999; Fernández-Jalvo *et al.*, 1999; Marlar *et al.*, 2000). And, as a whole, it establishes the experimental bases for the morphological research on either forensic and bioarchaeological bloodstains.

Acknowledgements

Grateful acknowledgement to the Service of Scientific Resources of the Rovira i Virgili University for the use of its electron microscopy facility. This work was supported by both a fellowship (DGESIC No. ACP1999-0177) and a project grant (DIGICYT No. PB-96-1026-C03-02) from the Spanish Government, and a grant (CIRIT No. 1999SGR00181) from the Catalan one (Commonwealth of Catalonia).

References

- Asami, K. & Yamaguchi, T. 1999. Electrical and morphological changes of human erythrocytes under high hydrostatic pressure followed by dielectric spectroscopy. *Annals of Biomedical Engineering* **27**, 427-435.
- Bahn, P. G. (1987). Getting blood from stone tools. *Nature* **330**, 14.
- Barnhart, M. I., Wallace, M. A. & Lusher, J. M. (1983). Red blood cells. In (G. M. Hodges & K. E. Carr, Eds.) *Biomedical Research Applications of Scanning Electron Microscopy*, vol. 3. London-New York: Academic Press, pp. 171-243.
- Bénézech, C. (1962). *L'eau, base structurale et fonctionnelle des êtres vivants*. Paris: Masson et Cie.
- Bennett, V. (1985). The membrane skeleton of human erythrocytes and its implications for more complex cells. *Annual Review of Biochemistry* **54**, 273-304.
- Bessis, M. (1974). *Corpuscles. Atlas of red blood cell shapes*. Berlin-New York: Springer.
- Budavari, S., Ed. (1996). *The Merck Index. An Encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals*, 12th ed. Whitehouse Station, NJ: Merck & Co., Inc.
- Bull, B. S. & Breton-Gorius, J. (1995). Morphology of the erythron. In (E. Beutler, M. A. Lichtman, B. S. Coller & T. J. Kipps, Eds.) *Williams Hematology*, 5th ed. New York, etc.: McGraw-Hill, pp. 349-363.
- Castoldi, G. L. (1981). Erythrocytes. In (D. Zucker-Franklin, M. F. Greaves, C. E. Grossi & A. M. Marmont, Eds.) *Atlas of Blood Cells. Function and pathology*. Milano/Philadelphia: Ermes/Lea & Febiger, pp. 35-145.

Chien, S. (1985). Role of blood cells in microcirculatory regulation. *Microvascular Research* **29**, 129-151.

Defleur, A., White, T., Valensi, P., Slimak, L. & Crégut-Bonnoure, É. (1999). Neanderthal cannibalism at Moula-Guercy, Ardèche, France. *Science* **286**, 128-131.

Dintenfass, L. (1976). *Rheology of Blood in Diagnostic and Preventive medicine. An introduction to clinical haemorheology*. London, etc.: Butterworths.

Diociaiuti, M., Bordi, F., Gataleta, L., Baldo, G. Crateri, P. & Paoletti, L. (1999). Morphological and functional alterations of human erythrocytes induced by SiO₂ particles: an electron microscopy and dielectric spectroscopy study. *Environmental Research* **80**, 197-207.

Fernández-Jalvo, Y., Díez, J. C., Cáceres, I. & Rosell, J. (1999). Human cannibalism in the Early Pleistocene of Europe (Gran Dolina, Sierra de Atapuerca, Burgos, Spain). *Journal of Human Evolution* **37**, 591-622.

Fiori, A. (1962). Detection and identification of bloodstains. In (F. Lundquist, Ed.) *Methods of Forensic Science*, vol. 1. New York-London: John Wiley & Sons, pp. 243-290.

Goldstein, J. I., Newbury, D. E., Echlin, P., Joy, D. C., Romig, Jr., A. D., Lyman, C. E., Fiori, C. & Lifshin, E. (1992). *Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis. A text for biologists, materials scientists, and geologists*, 2nd. ed. New York-London: Plenum Press.

Hortolà, P. (1992a). SEM analysis of red blood cells in aged human bloodstains. *Forensic Science International* **55**, 139-159.

Hortolà, P. (1992b). SEM characterization of blood stains on stone tools. *The Microscope* **40** (2), 111-113. 'Errata' in *The Microscope* **40** (3), vi.

Hortolà, P. (1994). Application of SEM to the study of red blood cells in forensic bloodstains. *Microscopy & Analysis (U.K. Edition)* **40**, 19 & 21 - *Microscopy & Analysis (European Edition)* **28**, 21 & 23.

Hortolà, P. (submitted for publication, a). Experimental SEM determination of game mammalian bloodstains on stone tools.

Hortolà, P. (submitted for publication, b). Morphological characterisation of red blood cells in human bloodstains on stone: a systematical SEM study.

Hyland, D. C., Tersak, J. M., Adovasio, J. M. & Siegel, M. I. (1990). Identification of the species of origin of residual blood on lithic material. *American Antiquity* **55**, 104-112.

Jain, N. C. (1986). *Schalm's Veterinary Hematology*, 4th. ed. Philadelphia: Lea & Febiger.

Kjeldsberg, C. R. (1993). Principles of hematologic examination. In (G. R. Lee, T. C. Bithell, J. Foerster, J. W. Athens & J. N. Lukens) *Wintrobe's Clinical Hematology*, 9th. ed., vol. 1. Philadelphia-London: Lea & Febiger, pp. 7-37.

LeBlond, P. F. & Shoucri, R. (1978). Calculation of surface area and volume of human erythrocytes from scanning electron micrographs. *Journal of Microscopy* **113**, 161-170.

Lewis, A. E. (1970). *Principles of Hematology*. London: Butterworths.

Liao, Z., Chen, G., Mao, Y., Peng, X., Dong, P. & Wu, J. (1998). [Morphologic changes of red blood cells in various conditions under scanning electron microscope; article in Chinese, with abstract, captions for figures and tables in Chinese and English]. *Hua Hsi I Ko Ta Hsueh Hsueh Pao* [Journal of West China University of Medical Sciences] **29**, 192-195.

López, L. (1953). *Técnica Médico-Legal*, vol. 1. Valencia: Saber.

Lowe, G. D. O. (1987). Blood rheology in vitro and in vivo. In (G. D. O. Lowe, Guest Ed.) *Blood Rheology and Hyperviscosity Syndromes. Baillière's Clinical Haematology*, vol. 1, No. 3. London, etc.: Baillière Tindall, pp. 597-636.

Lowenstein, J. M. (1993). Immunospecificity of fossil proteins. Implications for the establishment of evolutionary trends. In (M. H. Engel & S. A. Macko, Eds.) *Organic Geochemistry. Principles and applications*. New York-London: Plenum Press, pp. 817-827.

Loy, T. H. (1983). Prehistoric blood residues: detection on tool surfaces and identification of species of origin. *Science* **220**, 1269-1271.

Loy, T. H. (1998). Organic residues on Oldowan tools from Sterkfontein Cave, South Africa. In (M. A. Raath, H. Soodyall, K. L. K. D. Barkhan & P. V. Tobias, Eds.) *Dual Congress of the International Association for the Study of Human Paleontology, and International Association of Human Biologists*. Johannesburg: Department of Anatomical Sciences, University of the Witwatersrand Medical School, pp. 74-75.

Loy, T. H. & Dixon, E. J. (1998). Blood residues on fluted points from eastern Beringia. *American Antiquity* **63**, 21-46.

Loy, T. H. & Hardy, B. G. (1992). Blood residue analysis of 90,000 year old stone tools from Tabun Cave, Israel. *Antiquity* **66**, 24-35.

Loy, T. H. & Matthaei, K. I. (1994). Species of origin determination from prehistoric blood residues using ancient genomic DNA. *Australasian Biotechnology* **4**, 161-162.

Loy, T. H. & Wood, A. R. (1989). Blood residue analysis at Çayönü Tepesi, Turkey. *Journal of Field Archaeology* **16**, 451-460.

Lyman, R. L. (1994). *Vertebrate Taphonomy*. Cambridge: Cambridge University Press.

Maclean, N. (1978). *Haemoglobin*. London: Edward Arnold.

Mark, M., Walter, R., Harris, L. G. & Reinhart, W. H. (2000). Influence of parathyroid hormone, calcitonin, 1,25(OH)₂ cholecalciferol, calcium, and the calcium ionophore A23187 on the erythrocyte morphology and blood viscosity. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine* **135**, 347-352.

Marlar, R. A., Leonard, B. L., Billman, B. R., Lambert, P. M. & Marlar, J. E. (2000). Biochemical evidence of cannibalism at a prehistoric Puebloan site in southwestern Colorado. *Nature* **407**, 74-78.

Newman, M. & Julig, P. (1989). The identification of protein residues on lithic artifacts from a stratified boreal forest site. *Journal Canadien d'Archéologie/Canadian Journal of Archaeology* **13**, 119-132.

Newman, M. E., Ceri, H. & Kooyman, B. (1996). The use of immunological techniques in the analysis of archaeological materials – a response to Eisele; with report of studies at Head-Smashed-In Buffalo Jump. *Antiquity* **70**, 677-682.

Nickolls, L. C. (1962). The identification of stains of nonbiological origin. In (F. Lundquist, Ed.) *Methods of Forensic Science*, vol. 1. New York-London: John Wiley & Sons, pp. 335-371.

Quarino, L. & Kobilinsky, L. (1988). Development of a radioimmunoassay technique for the detection of human hemoglobin in dried bloodstains. *Journal of Forensic Sciences* **33**, 1369-1378.

Schiffer, M. B., Kamminga, J., Kleindienst, M., Tsirk, A., Faulkner, A., Hayden, B. & Cotterell, B. (1979). Discussion: raw materials, part A. In (B. Hayden, Editor) *Lithic Use-Wear Analysis*. New York, etc.: Academic Press, pp. 297-298.

Seiverd, C. E. (1983). *Hematology for Medical Technologists*. 5th ed. Philadelphia: Lea & Febiger.

Semenov, S. A. (1964). *Prehistoric Technology. An experimental study of the oldest tools and artefacts from traces of manufacture and wear*. Translated, and with a preface by M. W. Thompson. London: Cory, Adams & Mackay. First published in Russian (1957) by the Institute of the History of Material Culture of the Academy of Sciences of the U.S.S.R. (Moscow).

Tuross, N., Barnes, I. & Potts, R. (1996). Protein identification of blood residues on experimental stone tools. *Journal of Archaeological Science* **23**, 289-296.

Villanueva, E. (1998). Los indicios en Medicina legal. In (J. A. Gisbert, Dir.) *Medicina Legal y Toxicología*, 5th. ed. Barcelona, etc.: Masson, pp. 1103-1128.

Voet, D., Voet, J. G. & Pratt, C. W. (1999). *Fundamentals of Biochemistry*. New York, etc.: John Wiley & Sons.

Walker, R. H., Ed. in Chief (1990). *Technical Manual*, 10th. ed. Arlington: American Association of Blood Banks.

Tables

Table 1. Physical properties of the bloodstain lithic substrates

Substrate	Colour	Topography	Roughness	Texture	Fissuration	Absorbency	Permeability
obsidian (fs)	medium grey	nearly plain	null	hypohyaline (mi)	null	undetected	undetected
limestone (ec)	light grey	nearly plain	low	granular (hf)	null	undetected	undetected
chert (fs)	white	nearly plain	medium	granular (hf)	null	undetected	undetected

Legend: ec = eroded cortex; fs = fracture surface; hf = homogeneously fine-grained; mi = minor impurities present within the glass.

Table 2. Temperature and relative humidity ranges of the sample storage room, for 3 consecutive years

Year	tM	IAD _M	tm	IAD _m	HM	IAD _{HM}	Hm	IAD _{Hm}
I	32.5	NA	11	NA	83	NA	38	NA
II	34	+1.5	11	0	84	+1	38	0
III	34	0	11	0	84	0	38	0
ERV	34	0	11	0	84	0	38	0

Legend: ERV = extreme recorded value; H = relative humidity in percent; IAD = inter-annual difference; M = maximum; m = minimum; NA = non applicable; t = temperature in degrees Celsius.

Captions for Figures

Figure 1. Aspect at low magnification of the 7-year-6-month-old bloodstain on obsidian. The null roughness of the substrate surface (S) may be seen. Despite the thinness of the smear, which is evidenced by the lack of a macrocracking pattern, several raised micro-scales are shown. The origin of this micro-scale raising, close to that previously found on stainless steel (Hortolà, 1992a), would be related to the smooth texture of the substrate, haemotaphonomically comparable to the steel. Magnification according with bar.

Figure 2. 7-year-6-month-old bloodstain on obsidian. RBC-polystratified blood micro-scales are shown. Shining particles are post-depositional dust sedimented onto the smear. Magnification according with bar.

Figure 3. 7-year-6-month-old bloodstain on obsidian. Another view of RBC-polystratified blood micro-scales. The aspect of the erythrocytes is very similar to those of Figure 2. A broken cell (schizocyte, p) is shown. Magnification according with bar.

Figure 4. 7-year-6-month-old bloodstain on obsidian. RBC-polystratified blood micro-scales containing a 3-RBC pile (rouleaux, arrow) under a plasma microcrack as well as a crenated cell (echinocyte, e) are displayed. Magnification according with bar.

Figure 5. 7-year-6-month-old bloodstain on obsidian. Oligostratified pseudofrotis in the smear counterforts. This oligostratification is evidenced by moon-like shape superimposition (i). Magnification according with bar.

Figure 6. 7-year-6-month-old bloodstain on obsidian. Oligostratified pseudofrotis with some RBC acquiring, by compression of neighbour erythrocytes, the shape of teardrop cells (dacryocytes, e.g. dc) is shown. Magnification according with bar.

Figure 7. 7-year-6-month-old bloodstain on obsidian. Oligostratified pseudofrotis containing free and rouleau-piled RBC under plasma is displayed. A folded, xerocyte-like RBC (x) is also seen. Magnification according with bar.

Figure 8. 7-year-6-month-old bloodstain on obsidian. Oligostratified pseudofrotis with moon-like shapes. An incipient echinocyte resembling a flat sun (he), may be seen; this would be a subordinate morphology into the moon-like shapes, because its (perimeter-following) microcracking pattern is assimilable to that of those shapes. Magnification according with bar.

Figure 9. Aspect at low magnification of the 8-year-9-month-old bloodstain #1 (BS) on limestone; the two other bloodstains are partially seen, too. The continuity of the smeared layer (i.e., the lack of a visible desiccation macrocrack pattern at this level) is a sign which would corroborate its thinness. The grained texture of the substrate may be seen. Magnification according with bar.

Figure 10. 8-year-9-month-old bloodstain #1 on limestone. Some RBC negative replicas (e.g., n) may be seen. Magnification according with bar.

Figure 11. 8-year-9-month-old bloodstain #1 on limestone. Moon-like shapes in the smear counterforts and degraded plasma are shown. Magnification according with bar.

Figure 12. 8-year-9-month-old bloodstain #1 on limestone. In the smear centre, arisen micro-scales with a few RBC are displayed. Magnification according with bar.

Figure 13. 8-year-9-month-old bloodstain #1 on limestone. RBC in the smear counterforts. A mouth cell (stomatocyte, s) may be seen. Magnification according with bar.

Figure 14. 8-year-9-month-old bloodstain #1 on limestone. RBC in the smear counterforts. The plasma (P) in layers, and several smaller-than-typical RBC (microcytes) are shown. Magnification according with bar.

Figure 15. Aspect at low magnification of the 8-year-9-month-old bloodstain #2 (BS) on limestone. This view corresponds to the chip cutting-edge area. Magnification according with bar.

Figure 16. 8-year-9-month-old bloodstain #2 on limestone. A chip cutting-edge area containing a codocyte (arrow) and several flat disks (leptocytes) in the most external edge area is displayed. Magnification according with bar.

Figure 17. 8-year-9-month-old bloodstain #2 on limestone. Smear counterforts with degraded/fragmented free-RBC plasma (P) are shown. Magnification according with bar.

Figure 18. 8-year-9-month-old bloodstain #2 on limestone. Several moon-like shapes and a large accumulation of echinocytes in the smear centre may be seen. This Figure is very similar to that corresponding to a substrate depression in the thin smeared area of a 1-year-old bloodstain on chert (Hortolà, 1992a, Fig. 13), where the wide appearance of the echinocytes was interpreted as due to a slow drying in that topographically depressed area by itself and/or to the accumulation of some sweat when smearing. This phenomenon could also be related to a pre-ageing loss of fluid plasma due to the topographical slope, or correspond to a thicker sub-area with slow blood drying, where the plasma has been either detached or degraded and left out due to an ageing process during the storage time span, and thus displaying the inner, non-surficial RBC. Magnification according with bar.

Figure 19. 8-year-9-month-old bloodstain #2 on limestone. Another echinocyte area, with two plaques of suspected smear-detached plasma (P?). These plaques are very similar to those found in a gazelle bloodstain on chert examined after a year of burial storage (Hortolà, submitted for publication, Fig. 6), where a near-typical-shaped RBC remained still slightly united to one of those plaques. Such a plasma loss would indicate that wide echinocyte areas correspond to first-sedimented or at least inner RBC. Magnification according with bar.

Figure 20. 8-year-9-month-old bloodstain #2 on limestone. A triconcave cell (knizocyte, k) and some schizocytes may be seen. Magnification according with bar.

Figure 21. Aspect at low magnification of the 8-year-9-month-old bloodstain #3 (BS) on limestone. Magnification according with bar.

Figure 22. 8-year-9-month-old bloodstain #3 on limestone. Blood smear scales on the cutting-edge area are displayed. Magnification according with bar.

Figure 23. 8-year-9-month-old bloodstain #3 on limestone. Detail of a scale seen in Figure 22. Slight plasma surface fractures are an artifactual effect which did not disturb the morphological examination of the area, and is suspected to be caused by the electron beam when incremented SEM magnification. Some negative replicas (e.g., n) are also evidenced. Magnification according with bar.

Figure 24. 8-year-9-month-old bloodstain #3 on limestone. Near the smear counterforts, RBC under plasma, moon-like shapes, and a suspected incipient microorganism growth (g?) are shown. Magnification according with bar.

Figure 25. 8-year-9-month-old bloodstain #3 on limestone. The layered aspect of the plasma matrix, a clear stomatocyte (s), and probable degraded RBC are displayed. Magnification according with bar.

Figure 26. 8-year-9-month-old bloodstain #3 on limestone. RBC in a microcrack and under plasma are evidenced. The irregular cracking around RBC would indicate that this has not been exactly done along the erythrocyte-plasma interface. Magnification according with bar.

Figure 27. Aspect at low magnification of the 10-year-2-month-old bloodstain on chert (BS). The grained texture of the substrate may be seen. Differences in smear colour would correspond to different smear thickness. Magnification according with bar.

Figure 28. 10-year-2-month-old bloodstain on chert. The aspect of scales of a bloodstained area is shown. In a limited substrate area (M), a scale has left out and has been missed, letting to see the extreme thinness of the blood film. Magnification according with bar.

Figure 29. 10-year-2-month-old bloodstain on chert. Near the smear centre, artifactual slight plasma surface fractures similar to those displayed in Figure 23 are shown. Magnification according with bar.

Figure 30. 10-year-2-month-old bloodstain on chert. Near the smear counterforts, a moon-like shape area is evidenced. The notch (arrow) is believed to be an artifact, which would denote an accidental slight contact with any object, probably during the SEM processing. Magnification according with bar.

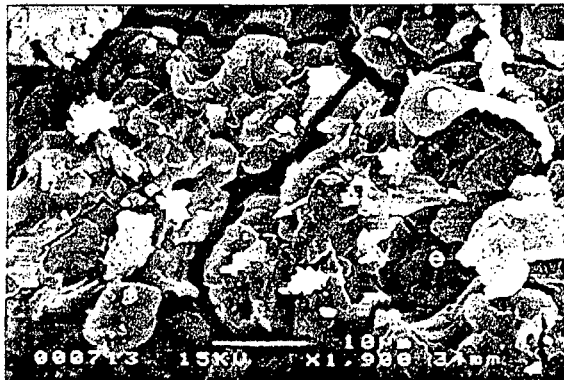
Figure 31. 10-year-2-month-old bloodstain on chert. Near the smear counterforts, two different RBC-oligostratified morphologies are shown. The aspect differences between moon-like shapes (e.g., m) and hidden, thin-layer plasma-coated RBC (e.g., h and neighbour erythrocytes) may be seen. Magnification according with bar.

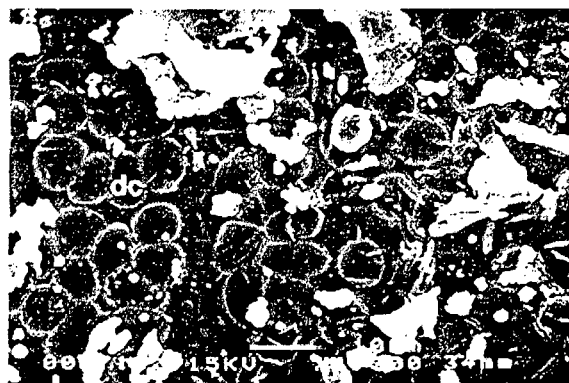
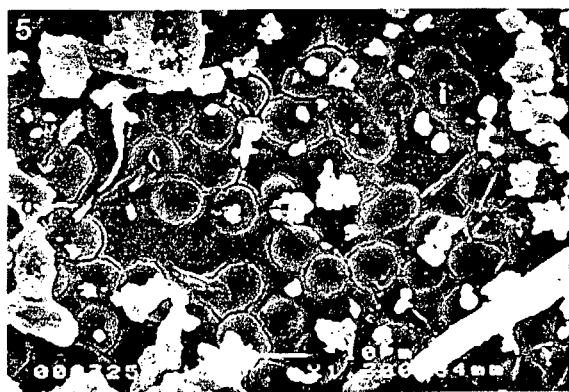
Figure 32. 10-year-2-month-old bloodstain on chert. Between two areas with moon-like shapes and original plasma where RBC are not fully distinguishable, a depressed area -where it seems that plasma has left out the smear, probably due to ageing process- is evidenced. Thanks to this hypothetical plasma removing, erythrocytes would be better seen. Magnification according with bar.

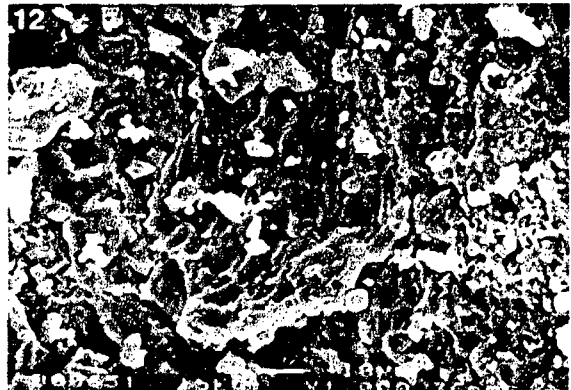
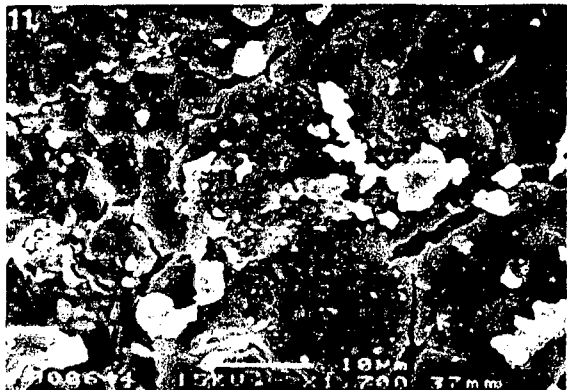
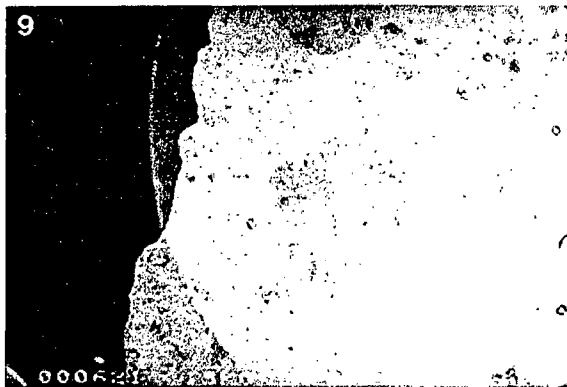
Figure 33. 10-year-2-month-old bloodstain on chert. An area with a very good RBC preservation state. This preservation state is closely similar to that shown in an accidental 3-month-old, thin human bloodstain on the same type of chert (Hortolà, 1992a, Fig. 2), where several morphologies such as discocyte, free and rouleau-piled leptocyte-like, spherostomatocyte, broken erythrocyte and RBC with the imprint of the next red cell could be seen. Magnification according with bar.

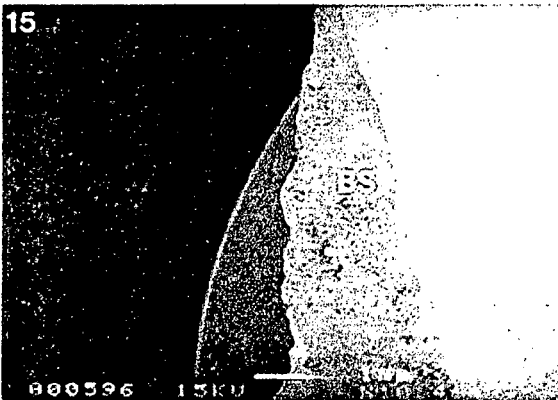
Figure 34. 10-year-2-month-old bloodstain on chert. Another area with a similar very good RBC preservation state. RBC morphologies other than those displayed in Figure 33 are shown, for example echinocytes. Magnification according with bar.

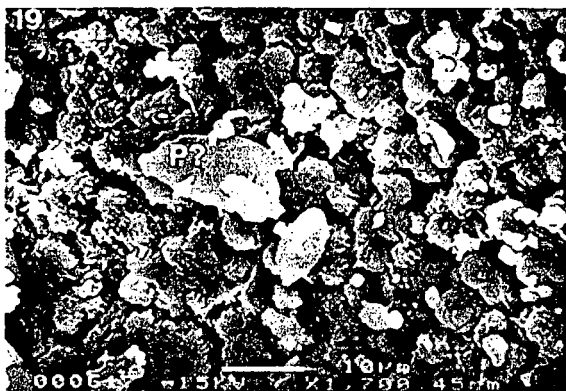
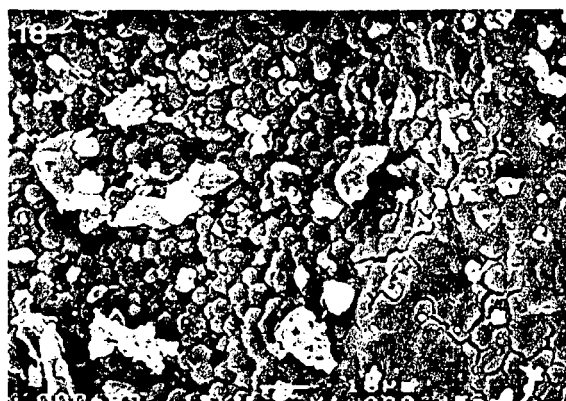
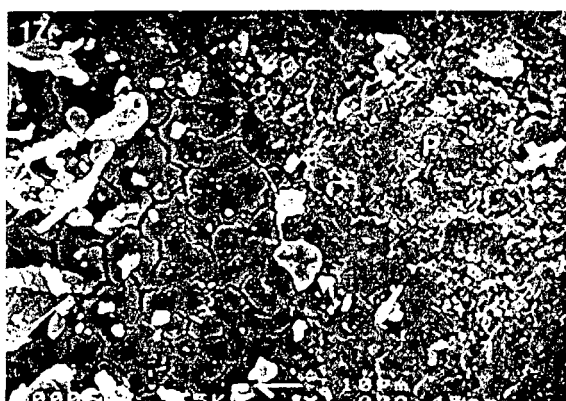
Figure 35. Suggested systematics for the smear-origin mammalian RBC. Etymologies: taphoerythrocytes, from the Greek τάφος (*taphos*, burial); physiocytes, from the Greek φύσις (*physis*, nature); kelidocytes, from the Greek κηλίδα (*kelida*, smear); hecatocytes, from the Greek Ἑκάτη (*Hecate*, the Greek supreme goddess identified in heaven with Selene, moon the deity); janocytes, from the Latin Ianus (*Janus*, the Roman double-faced god).

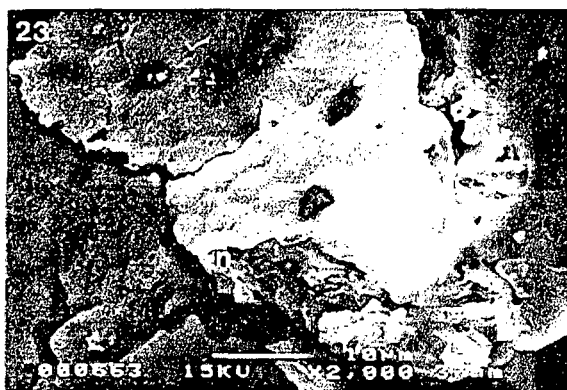


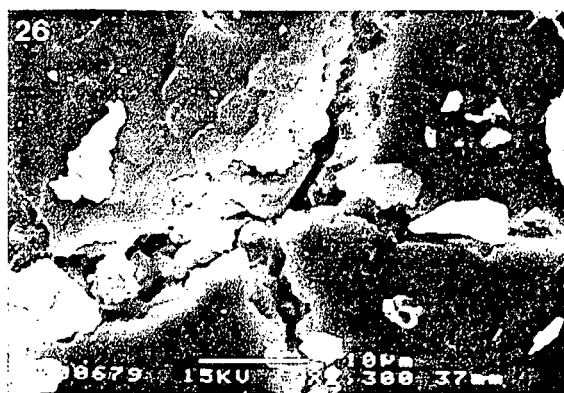


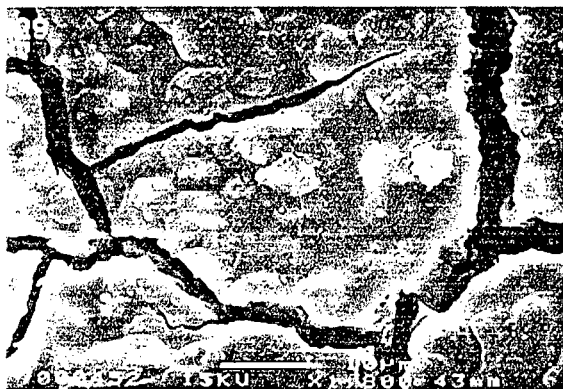






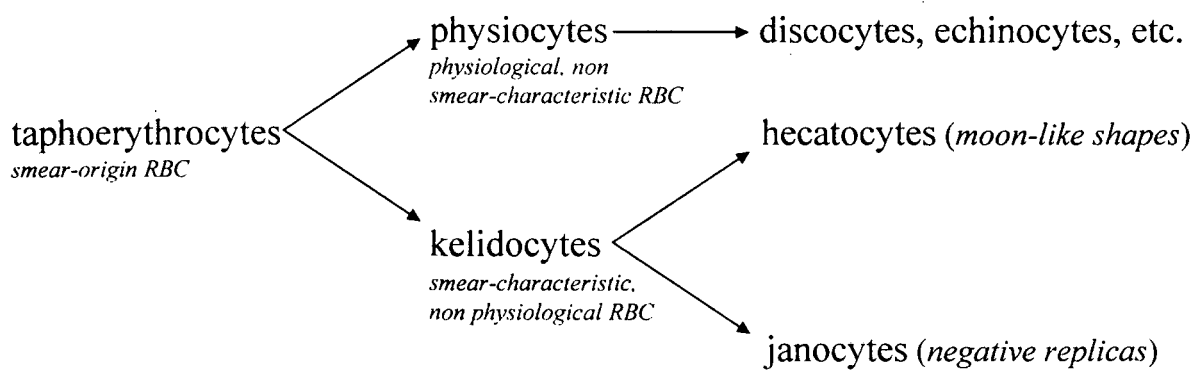








[Figure 35]



6.2.2. Traducción del inglés

Hemotafonomía de glóbulos rojos de la sangre de manchas de sangre humana experimentales sobre materias primas líticas tecnoprehistóricas

Resumen

Se ha informado anteriormente de eritrocitos de mamífero o glóbulos rojos de la sangre (GRS) -cuya presencia en una mancha es una evidencia de sangre- formando parte de residuos sobre implementos prehistóricos asignados a tan lejos como alrededor de dos millones de años de edad. En base al Principio del Actualismo, se obtuvieron manchas de sangre de individuos humanos sobre obsidiana, caliza y sílex, y entonces se mantuvieron en una sala inestéril bajo condiciones fluctuantes microclimáticamente no manipuladas, para transcurros de tiempo abarcando desde 7 años y 6 meses a 10 años y 2 meses. Después, las manchas de sangre se recubrieron doblemente con carbón y oro y fueron examinadas con un microscopio electrónico de barrido (MEB) JEOL JSM-6400. Los resultados revelaron una alta conservación de la integridad eritrocitaria, con varias formas como las halladas bajo condiciones fisiológicas y una presencia importante de formas lunoides además de una menor de réplicas negativas, dos morfologías que se interpretan como específicamente relacionadas con los fenómenos de secado de la sangre. Estos resultados concuerdan con varios análisis por MEB previamente informados de manchas más recientes de sangre de mamífero sobre sílex y materiales diferentes de la obsidiana y caliza, y llevan a considerar las formas lunoides (hecatocitos, un término *ex novo*) y réplicas negativas (janocitos, otro término *ex novo*) como las genuinas morfologías de GRS características de las manchas de sangre (como mínimo de mamífero).

Palabras clave: Glóbulos rojos de la sangre, manchas de sangre, Microscopia Electrónica de Barrido, Prehistoria, Actuopaleontología, Arqueología Experimental, Hemotafonomía.

Introducción

Ha sido revelada anteriormente en implementos prehistóricos la presencia de eritrocitos o glóbulos rojos de la sangre (GRS) de mamífero conservados morfológicamente formando parte de manchas (p. ej. Loy, 1983; Loy & Hardy, 1992; Loy & Dixon, 1998); se ha informado de tal conservación incluso en herramientas olduvaienses asignadas a *ca.* 2 Ma de

edad (Loy, 1998). Además, también se han identificado GRS de mamífero en elementos prehistóricos inmuebles, tales como una construcción del Holoceno inicial, conteniendo GRS anucleados, IgG humana y Hb humana y no humana sobre una losa de piedra (Loy & Wood, 1989).

La presencia de todo el tipo de residuos sobre implementos concuerda con el famoso Principio de Intercambio de Locard criminalístico ('todo contacto deja huellas'). Es decir, cuando dos objetos cualquiera entran en contacto, hay siempre una transferencia de material desde cada objeto al otro (Nickolls, 1962). Mientras que las actividades de transferencia para manchas de sangre no humana prehistóricas sobre herramientas de piedra se centrarían en la caza y carnicería, aquellas para las manchas de sangre humana comprenderían potencialmente una gama más amplia de elementos, incluyendo la manufactura de herramientas de piedra, ataques, cirugía, rituales (descuartizamiento de entierro, sacrificio, mutilación, escarificación), y -tanto si ritual como no- canibalismo.

La sangre de vertebrado es una suspensión de células (eritrocitos, leucocitos o glóbulos blancos de la sangre, y trombocitos o plaquetas) en un medio fluido (plasma). A diferencia de los otros vertebrados, en los mamíferos los eritrocitos -y también las plaquetas- son anucleados (Jain, 1986). Debido a esta carencia de núcleo, los GRS típicos de mamífero están formados como discos bicóncavos (discocitos). En los seres humanos, los eritrocitos de tamaño normal (normocitos) tienen un diámetro medio de 7,49 μm , de acuerdo con estereomicrografías de MEB (LeBlond & Shoucri, 1978). Debido a que los GRS tienen una densidad (gravedad específica) más alta que el medio de plasma en que están suspendidos (Lewis, 1970; Kjeldsberg, 1993), en sangre extravasada -p. ej., en una mancha reciente, aún no seca- ellos tienden a posarse. Además, tienen lugar varios cambios morfológicos a lo largo del secado de la mancha de sangre fresca. Los cambios morfológicos en GRS mamífero bajo condiciones de flujo nulo a lo largo del secado de la mancha de sangre fresca puede asimilarse a las hemorreológicas en un estado de flujo bajo. Así, la hipertoncicidad del plasma debida al proceso de secado de la mancha de sangre generalmente conduce a los GRS a responder estereotípicamente con cambios de forma. Éstos comprenden principalmente, con diversos grados, cambios estomatocíticos o equinocíticos, en la ruta hacia una forma esferocítica (Castoldi, 1981; Barnhart, Wallace & Lusher, 1983). Además, los eritrocitos en el plasma forman, o agregados lineales (rouleaux) que experimentan agregación secundaria para formar redes, o agregados 'en masa' de configuración diferente a la de los rouleaux. Por lo menos bajo condiciones fisiológicas, el esqueleto de la membrana o citoesqueleto del GRS (espectrina,

anquirina y otras proteínas) juega un papel importante en el mantenimiento de la forma y propiedades elásticas de deformabilidad de la célula (Bennett, 1985; Chien, 1985). Por otra parte, la agregación eritrocítica resulta de la acción de largas globulinas plasmáticas asimétricas (fibrinógeno, α_2 -macroglobulina y otras proteínas) que forman puentes entre GRS adyacentes y superan su repulsión mutua debida a las cargas negativas de superficie que resultan primariamente de los residuos de ácido siálico (Lowe, 1987); estos residuos de azúcar son parte de las glucoproteínas de la membrana del eritrocito (glucoforina A, glucoforina B y otras proteínas) (Bennett, 1985). Físicamente, la agregación reversible se debe a las fuerzas de dispersión van der Waals y London (Dintenfass, 1976).

A pesar del informe de la evidencia de GRS bioarqueológicos y del hecho que, en el análisis forense, la presencia de GRS en una mancha se considera una confirmación de sangre (p. ej., López, 1953; Fiori, 1962; Villanueva, 1998), el interés en el análisis de manchas de sangre se ha enfocado en su mayor parte al nivel molecular (p. ej., Quarino & Kobilinsky, 1988; Newman & Julig, 1989; Hyland *et al.*, 1990; Lowenstein, 1993; Loy & Matthaei, 1994; Tuross, Barnes & Potts, 1996). Así, aunque el conocimiento de las características morfológicas de los GRS originarios de mancha de sangre han merecido algún interés a los actuales científicos forenses (Liao *et al.*, 1998), no ha merecido uno de suficiente para ser tenido en cuenta por los bioarqueólogos, incluso en el caso que la conservación morfológica de GRS en manchas de sangre vieja modernas, junto con otras evidencias, ha sido presentado como un fuerte indicio de posible supervivencia de residuos de sangre sobre materiales arqueológicos (Newman, Ceri & Kooyman, 1996).

Mucha de la investigación arqueológica actual requiere de técnicas instrumentales avanzadas que faciliten algunas revisiones y nuevos estudios sobre materiales presumiblemente bien conocidos. Una manera para examinar *in situ* manchas de sangre es la técnica no destructiva que involucra el uso del microscopio electrónico de barrido (MEB). Los rasgos principales de un MEB son su alta resolución para objetos con volumen, y su gran profundidad de campo y contraste electrónico (efecto de relieve por sombra) que resulta en un aspecto tridimensional de la imagen del espécimen. Además, a causa de su capacidad de examinar objetos a muy bajo aumento, el MEB representa una herramienta muy útil en estudios forenses y arqueológicos (Goldstein *et al.*, 1992).

La Actuopaleontología y la Arqueología Experimental se basan en el Principio del Actualismo de Lyell ('el presente es la clave del pasado'). De acuerdo con Lyman (1994), la

investigación actualística se percibe actualmente como la base para la mayor parte del análisis e interpretación tafonómicos y arqueológicos. Debido a que una conservación a corto plazo de los especímenes es una condición previa *sine qua non* para hacer factible una de más larga (paleobiológica, bioarqueológica), en trabajos previos he informado de varias investigaciones por medio de MEB sobre la citomorfología de GRS manchas de sangre humana, supuestamente humana y no humana sobre materiales líticos (sílex, grauvaca) y no líticos (papel, acero inoxidable, asfalto urbano), abarcando desde 1 a 36 meses de edad (Hortolà, 1992a; Hortolà, 1992b; Hortolà, 1994; Hortolà, sometido para su publicación, a; Hortolà, sometido para su publicación, b). En este artículo, informo del análisis morfológico por MEB de GRS en manchas de sangre humana mucho más viejas, sobre una materia prima lítica anteriormente informada así como sobre dos de nuevas, todas ellas de interés para la tecnología prehistórica.

Materiales y métodos

Mancha de sangre sobre obsidiana

Sobre el superficie de fractura de un fragmento de obsidiana, se obtuvo directamente por el mecanismo de 'contacto' una mancha ultradelgada de sangre periférica (área $\approx 55 \cdot 10^{-6} \text{ m}^2$) del pulgar de la mano izquierda de una mujer adulta de 32 años. Después del manchado del fragmento, la mancha de sangre se secó sin luz solar directa ni viento, y se mantuvo por 7 años y 6 meses.

Manchas de sangre sobre caliza

Una lasca de caliza extraída de un canto se manchó en su superficie erosionada con sangre periférica del extremo del dedo medio de la mano derecha de un varón adulto de 32 años (individuo nº 1). Por el mecanismo de 'precipitation' (goteo gravitatorio) desde una altura baja ($h \approx 2 \cdot 10^{-2} \text{ m}$), se obtuvo una mancha delgada de sangre (mancha de sangre nº 1, área $\approx 16 \cdot 10^{-6} \text{ m}^2$), y por 'contacto' se obtuvieron dos de ultradelgadas (mancha de sangre nº 2, área $\approx 30 \cdot 10^{-6} \text{ m}^2$; mancha de sangre nº 3, área $\approx 12 \cdot 10^{-6} \text{ m}^2$). Las manchas de sangre se secaron al aire libre al sol con viento de moderado a nulo (ráfagas) durante 2 horas, y, después, se mantuvieron por 8 años y 9 meses.

Mancha de sangre sobre sílex

Sobre el superficie de fractura de un fragmento de sílex, se obtuvo directamente por el mecanismo de 'contacto' una mancha delgada de sangre periférica (área $\approx 30 \cdot 10^{-6} \text{ m}^2$) del borde de la palma de la mano derecha cerca del dedo meñique de un varón adulto de 28 años (individuo nº 2). La mancha se secó en una sala sin luz solar directa ni viento, y, luego, se mantuvo por 10 años y 2 meses.

Grosor de las manchas

La discriminación apriorística del grosor de la mancha de sangre se hizo al tiempo de manchar, en base a: (i) placas elevadas con macrofracturación poligonal presentes (\Rightarrow gruesa) o ausentes (\Rightarrow delgada o ultradelgada), y, en ausencia de placas, (ii) color rojo pronunciado (\Rightarrow delgada) o leve (\Rightarrow ultradelgada). El color de la mancha fue bien discernible de aquel del substrato incluso en el fragmento de obsidiana oscura.

Propiedades físicas de los substratos

Las propiedades físicas de los superficies de roca usadas como substratos de las manchas de sangre se muestran en la Tabla 1.

La topografía (microrelieve de la superficie de fractura), fisuración y color se determinaron en las muestras a simple vista antes del manchado de sangre. Además, la topografía de las superficies líticas fue también revisada examinando las diferencias en intensidad de color de la sangre en las áreas manchadas; las características topográficas asignadas fueron verificadas luego por medio del MEB.

Las propiedades restantes se determinaron para el mismo tipo de superficie en otros fragmentos de muestras de la materia prima, a fin de evitan cualquier posible alteración de las superficies a ser manchadas de sangre. Rugosidad y textura fueron determinadas primero palpando y luego examinando las superficies líticas con una lupa de campo de 7x; las rugosidades asignadas se verificaron luego por medio de MEB. Se determinó el grado de absorbencia y permeabilidad (conductividad hidráulica) a un fluido tipo, de referencia, con agua destilada (resistividad = $1 \cdot 10^6 \Omega$), a 25°C y 75%HR, colocando suavemente una gota sobre las superficies líticas y entonces examinando el progreso de la geometría de la gota y el diámetro de embebimiento, con la misma lupa de campo y una microregla transparente (precisión = $\pm 5 \cdot 10^{-4} \text{ m}$) en el instante 0 y 5, 10 y 15 minutos después de la colocación de la

gota. Esta prueba se efectuó por duplicado, en dos puntos diferentes de cada muestra, y no se detectaron cambios del inicio al final de los trancursos de tiempo, ni en la geometría de la gota (cercana a hemisférica) ni en el diámetro ($\varnothing = 4 \cdot 10^{-3}$ m, valor medio). En la determinación de la absorbencia y permeabilidad, la agua se eligió como un fluido de referencia debido a de que su coeficiente de viscosidad es más bajo que el de la sangre (Bénézech, 1962; Lowe, 1987); así, bajo las mismas condiciones, los valores de permeabilidad y absorbencia del agua hallados representarían aquellos por encima de los de la sangre, debido a la presencia de macromoléculas y células en este tejido biológico. La absorbencia y permeabilidad a la sangre sería, de hecho, menor a la encontrada al agua; por lo que, en este caso, sería indetectable.

Las superficies del substrato a ser probado o manchado de sangre se manejaron con extremo cuidado para impedir cualquier contaminación desde los dedos por ácidos grasos (fórmico, butírico, caproico) u otras sustancias del sudor exocrino (Bénézech, 1962), que pudiera variar las propiedades originales del substrato de la mancha y conducir a hacerlos artificialmente impermeables antes del manchado de sangre, o a acidificar la sangre después del manchado.

Condiciones de mantenimiento

Después del secado, las muestras se mantuvieron bajo condiciones de sala fluctuantes microclimáticamente no manipuladas e inestériles. Las condiciones microclimáticas de la sala durante los lapsos de tiempo de mantenimiento de las muestras se estimaron según los resultados de medidas meteorológicas tomadas *in situ* a diferentes horas a un promedio de cada 3 días, durante 3 años consecutivos. Estas medidas condujeron a fijar el rango de temperatura como $11 \leq t^{\circ}\text{C} \leq 34$, y el de humedad relativa como $38 \leq \%HR \leq 84$ (Tabla 2).

Procedimientos de MEB

Tras los lapsos de tiempo de mantenimiento especificados, los especímenes fueron doblemente recubiertos con carbono y oro para incrementar la resolución, por un recubridor por difusión catódica SCD 004 (BAL-TEC AG, Balzers, Liechtenstein), y entonces examinadas por medio de electrones secundarios a un voltaje de aceleración de 15 kV con un microscopio electrónico de barrido JSM-6400 (JEOL Ltd., Tokio, Japón). Las micrografías se obtuvieron utilizando película profesional (de alta sensibilidad) T-MAX 400 ISO (KODAK Ltd., Hemel Hempstead, Reino Unido).

El proceso de examen se llevó a cabo mediante los siguientes pasos: (i) dibujo de la forma de la mancha y ubicación en relación al fragmento de piedra, (ii) rastreo dinámico no sistemático, en base al dibujo, de la superficie del fragmento de piedra a muy bajo aumento ($x_{\text{total}} \leq 12 \cdot x_{\text{monitor}}$, donde $x_{\text{monitor}} = 3,6$), para situar el área manchada de sangre en el monitor, (iii) rastreo dinámico sistemático por toda la mancha a alto aumento ($x_{\text{total}} = 1,000 \cdot x_{\text{monitor}}$), para hallar específicamente las morfologías de GRS aparecidas, (iv) observación de la imagen estática a aumento variable ($x_{\text{total}} \cong 1,000 \cdot x_{\text{monitor}}$) en función de la extensión de eritrocitos a enfatizar, (v) micrografiado de la imagen estática seleccionada, y (vi) reobservación de la imagen estática seleccionada, por medio del positivo de la micrografía, con una lupa de mano de 2x ($x_{\text{total}} = 2 \cdot x_{\text{positivo}}$, donde $x_{\text{positivo}} = 2 \cdot x_{\text{negativo}}$).

Resultados

Los resultados se muestran y explican en las Figuras 1-34. Las tendencias hemotafonómicas principales observadas en estos GRS concuerdan con las halladas en muestras humanas previas (Hortolà, 1992a; Hortolà, sometido para su publicación, b). Como se observó anteriormente, el microfracturado de las manchas de sangre estuvo presente en las áreas delgadas de la mancha y únicamente apareció alrededor del GRS (p. ej., en las formas lunoides) en las ultradelgadas. La frecuencia de eritrocitos (recubiertos de plasma) mostrando morfologías tridimensionales fue alta en las áreas delgadas de mancha, y moderada (tendiendo hacia formas lunoides) en las ultradelgadas.

Discusión

Manchas de sangre experimentales

Un hecho importante en el estudio morfológico de eritrocitos originarios de mancha de sangre no es la cantidad de manchas examinadas, sino la extensión y el grosor de cada una, lo último proveyendo tendencias diferentes a aumento bajo y alto, como se expresó anteriormente (Hortolà, 1992a). Aunque la cantidad de manchas de sangre presentadas en este artículo es moderada, la existencia de un gran número de GRS en la sangre de vertebrado provee las réplicas apropiadas para cada tipo de mancha de sangre. Así, según Lewis (1970),

en la sangre humana entera el valor normal de recuento eritrocitario ($\text{RBC} \cdot \text{L}^{-1}$) promedia $5,4 \cdot 10^{12}$ en varones y $4,8 \cdot 10^{12}$ en mujeres.

Por otra parte, mientras que en manchas no humanas la sangre sería principalmente originaria de partes vitales del cuerpo en la caza o de cualquier parte de él en la carnicería, en las humanas la sangre se originaría principalmente de las manos, de acuerdo con Bahn (1987) y Loy & Wood (1989) en el sentido de la facilidad de corte al manufacturar herramientas de piedra.

Condiciones microclimáticas

Como se observó anteriormente en muestras más jóvenes (Hortolà, 1992a), la temperatura y la humedad relativa no parecen afectar a la conservación general de los GRS. Además, puesto que Asami & Yamaguchi (1999), en un estudio sobre los cambios eléctricos y morfológicos de los GRS humanos inducidos por presiones hidrostáticas desde $1 \cdot 10^8$ hasta $5 \cdot 10^8$ Pa, hallaron tal cambio de forma -de discoidal a esférica, supuestamente debido a la destrucción de la integridad citoesquelética- únicamente por encima de los $2 \cdot 10^8$ Pa, las presiones atmosféricas naturales no afectarían la morfología del eritrocito. Dado que la presión atmosférica normal a nivel del mar es de $1,01325 \cdot 10^5$ Pa ($\approx 1 \cdot 10^5$ Pa), esa presión crítica para la forma representaría alrededor de 2.000 veces por encima de la atmosférica típica.

Lapso de tiempo de envejecimiento

Ligeras fracturas de la superficie plasmática como las mostradas en las Figuras 23 y 29 no se habían hallado anteriormente en muestras más jóvenes examinadas al mismo voltaje de aceleración, incluso a aumentos de MEB alrededor de dos veces el utilizado aquí (p. ej., Hortolà, 1992a). Por lo tanto, esas fracturas podrían ser una consecuencia del envejecimiento que devendría más lábiles las proteínas plasmáticas.

Sin embargo, y aunque el efecto del envejecimiento en las formas de GRS expuestas no puede evaluarse separadamente de los otros factores, parece claro que el envejecimiento de la mancha no obstruyó la conservación general del GRS. En este sentido, la alta conservación de GRS exhibida en las muestras, en éste y en previos estudios, parece indicar que el tejido sanguíneo seco es homólogo o por lo menos análogo al momificado. Por lo tanto, no se espera que el parámetro del tiempo sea determinante *per se* del grado de conservación de las manchas de sangre, sino las variables del ambiente sedimentario.

Glóbulos rojos de la sangre

Debido a que el tamaño de las partículas de GRS libres o agregados influye su tasa de sedimentación eritrocitaria (TSE) (Seiverd, 1983), la vista de agregados en rouleau (de TSE más alta) en la superficie de las manchas de sangre como los mostrados en las Figuras 7 y 33 podría corroborar la delgadez de la mancha en conjunto. A pesar de que bajo hiperviscosidad plasmática -como ocurre en el proceso de secado de la sangre por evaporación del agua del plasma- la incrementada densidad plasmática disminuye la sedimentación de agregados, esta viscosidad alta tiende a la vez a disminuir la agregación celular, puesto que las células tienen que moverse en aposición a través del plasma suspendiente (Lowe, 1987); así, los rouleaux mostrados en esas Figuras corresponderían a las primeras ocurrencias de agregación. Por otra parte, la presencia o ausencia de una área equinocitaria amplia puede indicar, respectivamente, un rápido o lento secado del área manchada concreta. Aunque los GRS crenados pueden ocasionalmente presentarse en la sangre circulante (Maclean, 1978), en una mancha se producen cuando ésta se seca lentamente (Seiverd, 1983). La carencia en la mancha de sangre de una visible red de fibrina puede también estar relacionada con el rápido secado de la mancha de sangre. A la vez, los rouleaux por sí mismos secuestran principalmente fibrinógeno cuando suceden (Lowe, 1987).

A pesar de que, en la preparación de frotis de sangre clínicos, la fricción y tensión superficial producen varias formas anormales que se consideran hematológicamente como un artefacto (Bessis, 1974), desde el punto de vista hemotafonómico las formas lunoides son una morfología no artefactual que se revela ser una tendencia característica y muy común de las áreas ultradelgadas manchadas de sangre. Por otra parte, las réplicas negativas aparecerían en unas de más gruesas.

Aunque Tuross, Barnes & Potts (1996), tras exposición de sangre sobre herramientas experimentales de piedra a irradiación UV de laboratorio, informaron de una destrucción de toda inmunoreactividad, la exposición moderada a la irradiación UV natural, como la de la mancha de sangre de 8 años y 9 meses sobre caliza durante 2 horas, no parece afectar diferencialmente la integridad morfológica de los GRS, lo cual es consistente con otras observaciones previas en manchas de sangre humana y no humana (Hortolà, 1992b; Hortolà, sometido para su publicación, a; Hortolà, sometido para su publicación, b).

Propiedades físicas del sustrato

No parece haber otras diferencias significativas entre el tipo concreto de sustrato que una adherencia menor de la mancha de sangre sobre obsidiana. Este hecho estaría relacionado con la mayor lisura de la superficie de fractura frente a las superficies granudas de la caliza y sílex.

El color no estaría relacionado con la fracción celular, sino con una mejor o peor discriminación de la mancha de sangre como un todo, tanto a simple vista como a bajo aumento de MEB. La topografía se relacionaría con el grado de homogeneidad de grosor de la mancha por la formación de subáreas más gruesas/más delgadas y, así, con el aspecto de la fracción de célula siendo mostrado bajo un recubrimiento plasmático más/menos grueso. La rugosidad y textura estarían relacionadas con el asimiento mecánico y/o rotura de la fracción celular por los microcristales de la superficie durante el manchado, y con la adherencia de la sangre entera al sustrato durante el secado y/o envejecimiento. En una lista de algunos materiales líticos utilizados por el Hombre de la Edad de la Piedra en la fabricación de sus herramientas, Semenov (1964) ordenó 12 materias primas, por orden de rugosidad creciente de la fractura. Desde el cristal de roca (nº 1) a la nefrita (nº 12), la obsidiana se asignó al nº 2 y el sílex al nº 7, mientras que la caliza no fue incluida en aquella lista. La permeabilidad (es decir, la capacidad para transmitir fluidos, que, para una misma materia prima lítica, será función de su coeficiente de viscosidad y presión hidrostática) se relacionaría con un ocultamiento de la sangre, especialmente la fracción fluida más que la celular, dentro del sustrato; este hipotético ocultamiento diferencial proveería de una cantidad menor de matriz de plasma para proteger los eritrocitos y los otros elementos celulares de los factores de degradación en una mancha. La absorbencia estaría relacionada con la permeabilidad, así como una ocurrencia de fisuración aumentaría el grado de permeabilidad.

Desde el punto de vista hemotafonómico, el tipo concreto de sustrato (de piedra o no) de la mancha de sangre, si es de propiedades físicas similares, no parece jugar un papel dramático en la morfología de los GRS. Las propiedades físicas del sustrato de mancha de sangre más significativas se agruparían en tres categorías: (i) las relacionadas con el grado de homogeneidad de espesor de la mancha por la formación de subáreas más gruesa/más delgadas (topografía), (ii) las relacionadas con el asimiento mecánico y/o rotura de la fracción celular por microcristales de la superficie durante el manchado, y con la adherencia de la sangre entera al sustrato durante el secado y/o envejecimiento (rugosidad y textura), y (iii) las

relacionadas con un ocultamiento de la sangre, especialmente la fracción fluida más que la celular, dentro del substrato (permeabilidad, su absorbencia relacionada, y el fisurado que influye en la permeabilidad). De acuerdo con mi experiencia previa, tal categorización de materias primas basada en propiedades físicas es más descriptiva de los factores limitantes que afectan a los GRS y las manchas de sangre que las tipologías, y concuerda con algunos comentarios emitidos en lo que concierne a materias primas en análisis lítico de huellas de uso (Schiffer *et al.*, 1979).

Composición química del substrato

Respecto a la obsidiana y sílex, el anhídrido silícico (sílice, SiO₂), tanto amorfo -como en la obsidiana- como cristalizado -como en el sílex-, es prácticamente insoluble en agua o ácidos, excepto el ácido fluorhídrico (HF), y ligeramente atacado calentándolo con ácido fosfórico (H₃PO₄) concentrado; las formas amorfas de sílice, especialmente cuando se dividen finamente, son solubles en álcalis, mientras que las cristalizadas son escasamente atacadas por álcalis (Budavari, 1996, monografía 'Silicon Dioxide'). Se ha hallado *in vitro* un cierto grado de alteración morfológica dependiente del tiempo, de GRS humanos aislados dentro de SiO₂ particulado, previamente lavados (Diociaiuti *et al.*, 1999).

Respecto a la caliza, los cristales de carbonato cálcico (CaCO₃) son prácticamente insolubles en agua y solubles en ácidos diluidos (Budavari, 1996, monografía 'Calcium Carbonate'). Se ha hallado *in vivo* e *in vitro* que los niveles plasmáticos de calcio altos no afectan a la morfología de los GRS (Mark *et al.*, 2000). *In vivo*, el pH de la sangre humana está estrechamente controlado a 7,4 (Voet, Voet & Pratt, 1999), e *in vitro*, cuando se recolecta en anticoagulante de dextrosa fosfato citrato y se mide a la temperatura de mantenimiento, es aproximadamente 7,4-7,5 (Walker, 1990). Así, el valor normal del pH de la sangre humana es muy poco alcalino, cerca de neutro. Por lo tanto, no se espera que la sangre pueda disolver los compuestos de la roca como para hacer posible una influencia química del substrato en la morfología de los GRS.

Conclusiones

Los resultados de este estudio concuerdan con análisis por MEB anteriormente informados de manchas de sangre de mamífero más jóvenes sobre sílex, grauvaca y substratos

no pétreos (Hortolà, 1992a; Hortolà, 1992b; Hortolà, 1994; Hortolà, sometido para su publicación, a; Hortolà, sometido para su publicación, b).

Aunque la mayor parte de las formas de GRS originario de mancha halladas comparten morfología con las descritas en Hematología (e.g., Bessis, 1974; Castoldi, 1981; Bull & Breton-Gorius, 1995), dos formas de GRS independientes del tiempo interpretadas como específicamente debidas a fenómenos de secado -y, así, obviamente no halladas bajo condiciones fisiológicas- pueden ser consideradas como las genuínas morfologías de GRS características de manchas de sangre (como mínimo de mamífero): las formas lunoides, que se deberían a interacción eritrocito-plasma durante el secado, y las réolicas negativas, que estarían relacionadas con la impresión por la matrix de plasma seco. En este sentido, se sugiere una sistemática para los GRS de mamífero originarios de mancha de sangre (Figura 35).

El hallazgo de diferentes morfologías de GRS y matriz de plasma conservadas en manchas de sangre humana sobre materias primas líticas tecnoprehistóricas posee claras aplicaciones a la Paleoeología Homínida y al análisis lítico, especialmente cuando pueden estar presentes otros indicios o incluso evidencias de canibalismo prehistórico (p. ej., Defleur *et al.*, 1999; Fernández-Jalvo *et al.*, 1999; Marlar *et al.*, 2000). Y, en conjunto, establece las bases experimentales para la investigación morfológica sobre manchas de sangre forenses y bioarqueológicas.

Agradecimientos

Agradecido reconocimiento al Servicio de Recursos Científicos de la Universidad Rovira i Virgili por la utilización de su instalación de Microscopia Electrónica. Este trabajo tuvo el apoyo de una beca (DGESIC N° ACP1999-0177) y un proyecto subvencionado (DIGICYT N° PB-96-1026-C03-02) del gobierno español, y una subvención (CIRIT N° 1999SGR00181) del catalán (Generalidad de Cataluña).

Tablas

Tabla 1. Propiedades físicas de los substratos líticos de las manchas de sangre

Substrato	Color	Topografía	Rugosidad	Textura	Fisuración	Absorbencia	Permeabilidad
obsidiana (sf)	gris medio	casi plana	nula	hipohialina (im)	nula	indetectada	indetectada
caliza (ce)	gris claro	casi plana	baja	granuda (fh)	nula	indetectada	indetectada
sílex (sf)	blanco	casi plana	media	granuda (fh)	nula	indetectada	indetectada

Leyenda: ce = corteza erosionada; fh = grano fino homogéneamente; im = impurezas menores presentes dentro del vidrio; sf = superficie de fractura.

Tabla 2. Rangos de temperatura y humedad relativa de la sala de mantenimiento de las muestras, para 3 años consecutivos

Año	tM	DIA _{tM}	tm	DIA _{tm}	HM	DIA _{HM}	Hm	DIA _{Hm}
I	32,5	NA	11	NA	83	NA	38	NA
II	34	+1,5	11	0	84	+1	38	0
III	34	0	11	0	84	0	38	0
VER	34	0	11	0	84	0	38	0

Leyenda: DIA = diferencia interanual; H = humedad relativa en tanto por ciento; M = máximo; m = mínimo; NA = no aplicable; t = temperatura en grados Celsius; VER = valor extremo registrado.

Texto de las Figuras

Figura 1. Aspecto a bajo aumento de la mancha de sangre de 7 años y 6 meses sobre obsidiana. Puede verse la nula rugosidad de la superficie del substrato (S). A pesar de la delgadez de la mancha, que se evidencia por la carencia de un patrón de macrofractura, se muestran varias microescamas levantadas. El origen de este levantamiento de microescamas, cercano al hallado anteriormente sobre acero inoxidable (Hortolà, 1992a), estaría relacionado con la lisa textura del substrato, hemotafonómicamente comparable al acero. Aumento según la barra.

Figura 2. Mancha de sangre de 7 años y 6 meses sobre obsidiana. Se muestran microescamas de sangre de GRS poliestratificados. Las partículas brillantes son polvo post-deposicional sedimentado sobre la mancha. Aumento según la barra.

Figura 3. Mancha de sangre de 7 años y 6 meses sobre obsidiana. Otra vista de microescamas de sangre de GRS poliestratificados. El aspecto de los eritrocitos es muy parecido al de la Figura 2. Se muestra una célula rota (esquizocito, p). Aumento según la barra.

Figura 4. Mancha de sangre de 7 años y 6 meses sobre obsidiana. Se muestran microescamas de sangre de GRS poliestratificados conteniendo una pila de 3 GRS (rouleaux, flecha) bajo una microfractura de plasma así como una célula crenada (equinocito, e). Aumento según la barra.

Figura 5. Mancha de sangre de 7 años y 6 meses sobre obsidiana. Pseudofrotis oligoestratificado en los contrafuertes de la mancha. Esta oligoestratificación se evidencia por la superposición de formas lunoides (i). Aumento según la barra.

Figura 6. Mancha de sangre de 7 años y 6 meses sobre obsidiana. Se muestra el pseudofrotis oligoestratificado con algunos GRS adquiriendo, por compresión de eritrocitos vecinos, la forma de células en lágrima (dacriocitos, p. ej. dc). Aumento según la barra.

Figura 7. Mancha de sangre de 7 años y 6 meses sobre obsidiana. Se exhibe el pseudofrotis oligoestratificado conteniendo GRS libres y apilados en rouleau bajo el plasma. Se ve también un GRS plegado, como xerocito (x). Aumento según la barra.

Figura 8. Mancha de sangre de 7 años y 6 meses sobre obsidiana. Pseudofrotis oligoestratificado con formas lunoides. Puede verse un equinocito incipiente pareciendo un sol plano (he); ésta sería una morfología subordinada dentro de las formas lunoides, puesto que su patrón de microfracturación (siguiendo el perímetro) es asimilable al de aquellas formas. Aumento según la barra.

Figura 9. Aspecto a bajo aumento de la mancha de sangre de 8 años y 9 meses nº 1 sobre caliza (BS); las otras dos manchas de sangre se ven parcialmente, también. La continuidad de la capa manchada (es decir, la ausencia de un patrón de desecación visible a este nivel) es una señal que corroboraría su delgadez. Puede verse la textura granuda del substrato. Aumento según la barra.

Figura 10. Mancha de sangre de 8 años y 9 meses nº 1 sobre caliza. Pueden verse algunas réplicas negativas de GRS (p. ej., n). Aumento según la barra.

Figura 11. Mancha de sangre de 8 años y 9 meses nº 1 sobre caliza. Se muestran formas lunoides en los contrafuertes de la mancha y plasma degradado. Aumento según la barra.

Figura 12. Mancha de sangre de 8 años y 9 meses nº 1 sobre caliza. Se muestran microescamas elevadas con pocos GRS, en el centro de mancha. Aumento según la barra.

Figura 13. Mancha de sangre de 8 años y 9 meses nº 1 sobre caliza. GRS en los contrafuertes de la mancha. Puede verse una célula en boca (estomatocito, s). Aumento según la barra.

Figura 14. Mancha de sangre de 8 años y 9 meses nº 1 sobre caliza. GRS en los contrafuertes de la mancha. Se muestran el plasma (P) en capas, y varios GRS más pequeños que el típico (microcitos). Aumento según la barra.

Figura 15. Aspecto a bajo aumento de la mancha de sangre de 8 años y 9 meses nº 2 sobre caliza (BS). Esta vista corresponde al área del filo de la lasca. Aumento según la barra.

Figura 16. Mancha de sangre de 8 años y 9 meses nº 2 sobre caliza. Se muestra una área del filo de la lasca conteniendo un codocito (flecha) y varios discos planos (leptocitos) en el área más externa del borde. Aumento según la barra.

Figura 17. Mancha de sangre de 8 años y 9 meses nº 2 sobre caliza. Se muestran contrafuertes de la mancha con plasma sin GRS degradado/fragmentado (P). Aumento según la barra.

Figura 18. Mancha de sangre de 8 años y 9 meses nº 2 sobre caliza. Pueden verse varias formas lunoides y una gran acumulación de equinocitos en el centro de mancha. Esta Figura es muy parecida a la correspondiente a una depresión del substrato en el área manchada delgada de una mancha de sangre de 1 año sobre sílex (Hortolà, 1992a, Fig. 13), donde la amplia aparición de equinocitos se interpretó como debida por sí misma a un secado lento en aquella área topográficamente deprimida y/o a la acumulación de algo de sudor al tiempo del manchado. Este fenómeno podría también estar relacionado con una pérdida, pre-envejecimiento, de plasma fluído debido a la inclinación topográfica, o corresponder a una subárea más gruesa con secado lento de la sangre, donde el plasma se ha removido o degradado y dejado fuera debido a un proceso de envejecimiento durante el lapso de tiempo de mantenimiento, y así mostrando los GRS interiores, no superficiales. Aumento según la barra.

Figura 19. Mancha de sangre de 8 años y 9 meses nº 2 sobre caliza. Otra área de equinocitos, con dos placas supuesto plasma separado de la mancha (P?). Estas placas son muy similares a las halladas en una mancha de sangre de gacela sobre sílex examinada después de un año de mantenimiento de entierro (Hortolà, sometido para su publicación, Fig. 6), donde un GRS de forma cercana a la típica permaneció todavía ligeramente unido a una de esas placas. Tal pérdida de plasma indicaría que las áreas amplias de equinocitos corresponden a los GRS sedimentados primero o por lo menos interiores. Aumento según la barra.

Figura 20. Mancha de sangre de 8 años y 9 meses nº 2 sobre caliza. Puede verse una célula tricóncava (knizocito, k) y algunos esquizocitos. Aumento según la barra.

Figura 21. Aspecto a bajo aumento de la mancha de sangre de 8 años y 9 meses nº 3 sobre caliza (BS). Aumento según la barra.

Figura 22. Mancha de sangre de 8 años y 9 meses nº 3 sobre caliza. Se muestran escamas de la mancha de sangre en el área del filo. Aumento según la barra.

Figura 23. Mancha de sangre de 8 años y 9 meses nº 3 sobre caliza. Detalle de una escala vista en la Figura 22. Las ligeras fracturas de la superficie del plasma son un efecto artefactual que no perturbó el examen morfológico del área, y se sospecha que es ocasionado por el haz de electrones cuando se incrementa el aumento del MEB. Se evidencian también algunas réplicas negativas (p. ej., n). Aumento según la barra.

Figura 24. Mancha de sangre de 8 años y 9 meses nº 3 sobre caliza. Se muestran, cerca de los contrafuertes de la mancha, GRS bajo el plasma, formas lunoides, y un supuesto crecimiento incipiente de microorganismos (g?). Aumento según la barra.

Figura 25. Mancha de sangre de 8 años y 9 meses nº 3 sobre caliza. Se muestran el aspecto en capas de la matriz de plasma, un claro estomatocito (s), y probables GRS degradados. Aumento según la barra.

Figura 26. Mancha de sangre de 8 años y 9 meses nº 3 sobre caliza. Se evidencian GRS en una microfractura y bajo el plasma. La irregular fracturación alrededor de los GRS indicaría que ésta no ha se hecho exactamente a lo largo de la interfase eritrocito-plasma. Aumento según la barra.

Figura 27. Aspecto a bajo aumento de la mancha de sangre de 10 años y 2 meses sobre sílex (BS). Puede verse la textura granuda del substrato. Las diferencias en color de la mancha corresponderían a diferentes grosores de la misma. Aumento según la barra.

Figura 28. Mancha de sangre de 10 años y 2 meses sobre sílex. Se muestra el aspecto de escamas de una área manchada de sangre. En una limitada área del substrato (M), una escama ha saltado y ha desaparecido, dejando ver la extrema delgadez de la película de sangre. Aumento según la barra.

Figura 29. Mancha de sangre de 10 años y 2 meses sobre sílex. Cerca del centro de la mancha, se muestran ligeras fracturas de la superficie del parecidas a las mostradas en la Figura 23. Aumento según la barra.

Figura 30. Mancha de sangre de 10 años y 2 meses sobre sílex. Cerca de los contrafuertes de la mancha, se evidencia una área de formas lunoides. Se cree que la muesca (flecha) es un artefacto, que denotaría un ligero contacto accidental con cualquier objeto, probablemente durante el procesado de MEB. Aumento según la barra.

Figura 31. Mancha de sangre de 10 años y 2 meses sobre sílex. Cerca de los contrafuertes de la mancha, se muestran dos morfologías diferentes de GRS oligoestratificados. Pueden verse las diferencias de aspecto entre las formas lunoides (p. ej., m) y GRS ocultos, recubiertos de una capa delgada de plasma (p. ej., h y eritrocitos vecinos). Aumento según la barra.

Figura 32. Mancha de sangre de 10 años y 2 meses sobre sílex. Entre dos áreas con formas lunoides y plasma original donde los GRS no son totalmente discernibles, se evidencia un área deprimida -donde parece que el plasma ha saltado de la mancha, probablemente debido al proceso de envejecimiento-. Gracias a esta hipotética remoción del plasma, los eritrocitos se verían mejor. Aumento según la barra.

Figura 33. Mancha de sangre de 10 años y 2 meses sobre sílex. Un área con un estado de conservación de los GRS muy bueno. Este estado de conservación es muy parecido al mostrado en una mancha delgada accidental de sangre humana de 3 meses sobre el mismo tipo de sílex (Hortolà, 1992a, Fig. 2), donde pudieron verse varias morfologías tales como las de discocito, leptocitoides libres y apilados en rouleau, esferoestomatocito, eritrocito roto y GRS con la huella del glóbulo rojo contíguo. Aumento según la barra.

Figura 34. Mancha de sangre de 10 años y 2 meses sobre sílex. Otra área con un similar muy buen estado de conservación de los GRS. Se muestran morfologías de GRS diferentes de las exhibidas en la Figura 33, por ejemplo equinocitos. Aumento según la barra.

Figura 35. Sistemática sugerida para los GRS de mamífero originarios de mancha. Etimologías: tafoeritrocitos, del griego τάφος (*táfos*, entierro); fisiocitos, del griego φύσις (*fisis*, Naturaleza); kelidocitos, del griego κηλίδα (*kelida*, mancha); hecatocitos, del griego Ἑκάτη (*Hécate*, la diosa suprema griega identificada en el cielo con Selene, la deidad lunar); janocitos, del latín Janus (*Jano*, el dios bifronte romano).

7. CONCLUSIONES

7.1. Observación

Se habían observado previamente típicos eritrocitos de mamífero (discocitos) en manchas de sangre sobre herramientas líticas prehistóricas, por parte de Loy (1983, 1987) y Loy & Wood (1989).

7.2. Hipótesis

Se plantearon las siguientes hipótesis a contrastar y preguntas a responder:

- **hipótesis inicial:** *En una mancha de sangre de mamífero sobre substrato lítico, la preservación morfológica de los eritrocitos es experimentalmente independiente de su antigüedad.*

En caso de tener que rechazar esta hipótesis, se planteaba la siguiente

- **pregunta subordinada a la hipótesis inicial:** *¿Cuánto tiempo pueden preservarse morfológicamente los eritrocitos de mamífero en una mancha de sangre sobre substrato lítico?*

En caso de poder aceptar la hipótesis inicial, se planteaba la siguiente

- **hipótesis subordinada a la hipótesis inicial:** *En una mancha de sangre de mamífero sobre substrato lítico, los eritrocitos presentan únicamente las mismas morfologías que aparecen en condiciones fisiológicas (normales o patológicas).*

En caso de tener que rechazar esta hipótesis, se planteaba la siguiente

- **pregunta subordinada a la hipótesis subordinada:** *¿Qué morfologías caracterizan a los eritrocitos de mamífero en una mancha de sangre sobre substrato lítico?*

7.3. Experimentación

Se realizó una experimentación con manchas de sangre, utilizando como substrato de las mismas materiales líticas de interés tecnoprehistórico y otros materiales, no líticos, de interés criminalístico.

El rango temporal experimental de las manchas fue:

1 mes - 10 años.

La sangre utilizada fue:

- humana (*Homo sapiens sapiens*)
- de mamífero no humano (*Tayassu tajacu*, *Gazella dorcas*)
- desconocida (supuestamente humana)

El sustrato de las manchas utilizado fue:

- sílex
- grauvaca
- obsidiana
- caliza
- acero inoxidable
- asfalto
- papel.

De acuerdo con su grosor, las manchas fueron:
ultradelgadas- gruesas.

Las manchas se mantuvieron:

- enterradas, en exterior (*Gazella dorcas*)
- sin enterrar, en interior (resto).

La técnica morfoanalítica empleada fue:

- Microscopia Electrónica de Barrido.

En esta experimentación, se observó que:

- La preservación general de las manchas fue mejor
 - en los sustratos duros que en los blandos
 - en las superficies rugosas que en las lisas

Los eritrocitos de mamífero en manchas de sangre exhibieron algunas morfologías previamente descritas en frotis hematológicos y otras específicas de mancha no descritas anteriormente en frotis hematológicos ni en manchas criminalísticas.

Las morfologías eritrocitarias comunes a frotis hematológicos y manchas de sangre fueron:

- discocitos
 - individuales
 - pilas (*rouleaux*)
- equinocitos
- esferocitos

- estomatocitos
- leptocitos
- esquizocitos

Las morfologías específicas de mancha, no descritas en frotis hematológicos, fueron:

- formas lunoides
- réplicas negativas

7.4. Tesis

Podemos aceptar la hipótesis inicial. Es decir, que:

En una mancha de sangre de mamífero sobre substrato lítico, la preservación morfológica de los eritrocitos es experimentalmente independiente de su antigüedad.

Esta afirmación tiene carácter probable y no necesario, de acuerdo con los principios lógico-probabilísticos, y sería válida, como mínimo, al nivel de 10 años y 2 meses de antigüedad.

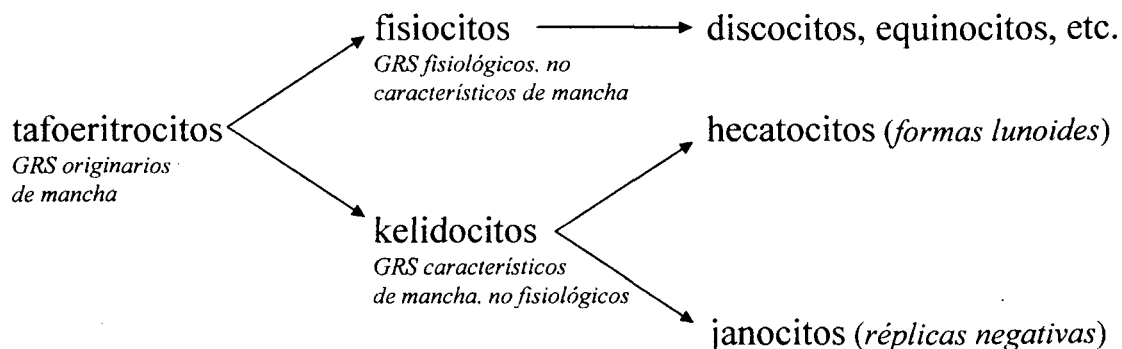
Debemos rechazar la hipótesis subordinada a la hipótesis inicial. Es decir, que:

En una mancha de sangre de mamífero sobre substrato lítico, los eritrocitos presentan también otras morfologías distintas a las que aparecen en condiciones fisiológicas (normales o patológicas).

Debemos responder a la pregunta subordinada a la hipótesis subordinada. La respuesta es:

Las morfologías que caracterizan a los eritrocitos de mamífero en una mancha de sangre sobre substrato lítico son las formas lunoides y las réplicas negativas.

Finalmente, se propone la siguiente clasificación morfológica de los eritrocitos de mamífero en manchas de sangre, válida, como mínimo, para substratos líticos:



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
MORFOLOGÍA DE ERITROCITOS DE MAMÍFERO EN MANCHAS DE SANGRE: ESTUDIO SOBRE MATERIALES
LÍTICOS DE INTERÉS TECNOPREHISTÓRICO
Policarp Hortolà i Gómez
ISBN:978-84-691-1906-8/D.L: T-356-2008

8. REFERENCIAS

Almarcha, J.

- 1990 Métodos de estudio de las células sanguíneas. Semiología. In Woessner, S., Editor: *Técnicas en Citología Hematológica. Morfología, Citoquímica, Inmunología, Ultraestructura, Cultivos in vitro, Citogenética y Biopsias medulares*. Barcelona: Medici, 16-61.

Ambrose, S. H.

- 2001 Paleolithic technology and human evolution. *Science* **291**: 1748-1753.

Andrew, W.

- 1965 *Comparative Hematology*. New York: Grune & Stratton.

Asimov, I.

- 1990 *Cronología de los descubrimientos*. Traducción de V. Villacampa. Barcelona-Cáracas-México: Ariel.

Aznar, B.

- 1950 *El Pelo y la Sangre como Indicios del Delito*. Madrid: Escuela de Medicina Legal.

Bahn, P. G.

- 1987 Getting blood from stone tools. *Nature* **330**: 14.

Bargmann,

- 1968 *Histología y Anatomía Microscópica Humanas*. 3ª edición. Traducción de J. G. Sánchez-Lucas. Barcelona [etc.]: Labor.

Barnhart, M. I., M. A. Wallace & J. M. Lusher

- 1983 Red Blood Cells. In Hodges, G. M. & K. E. Carr, Editors: *Biomedical Research Applications of Scanning Electron Microscopy*. Volume 3. London- New York: Academic Press, 171-243.

Barnhart, M. I. *et alii*

- 1980 Tissue vestiges of an ancient Magadan mammoth calf. *Scanning Electron Microscopy* **2**: 163-170.

Behringwerke AG

- [1991] *Rapignost*[®]. *For more perspectives in urinalysis* [folleto técnico].
Marburg: Behringwerke AG.

Bennett, V.

- 1985 The membrane skeleton of human erythrocytes and its implications for more complex cells. *Annual Review of Biochemistry* **54**: 273-304.

Bennett, V. & S. Lambert

- 1991 The spectrin skeleton: from red cells to brain. *Journal of Clinical Investigation* **87**: 1483-1489.

Berga, L.

- 1980 *Estudio del comportamiento reológico de la sangre humana. Aplicaciones al flujo sanguíneo*. Madrid: Fundación Juan March.

Berga, L. *et alii*

- 1982 Contribución de la microscopia electrónica de barrido (MEB) al estudio de la morfología eritrocitaria y al diagnóstico de los síndromes hemolíticos. *Sangre* **4**: 445-460.

Berga, L. *et alii*

- 1987 Contribución de la microscopia electrónica de barrido al estudio ultraestructural de la médula ósea humana. *Sangre* **32**: 429-445.

Bermúdez de Castro, J. M., T. G. Bromage & Y. Fernández Jalvo

- 1989 El MEB y la técnica de réplicas aplicados en Paleontología humana y Tafonomía. In Aguirre, E., Coordinador: *Paleontología*. Madrid: Consejo Superior de Investigaciones Científicas, 161-178.

Bernard, J.

- 1983 *Le Sang et l'Histoire*. Paris: Buchet/Chastel.

Beroldingen, C. H. von *et alii*

- 1989 Applications of PCR to the analysis of biological evidence. In Erlich, H. A., Editor: *PCR Technology. Principles and applications for DNA amplification*. New York [etc.]: Stockton Press, 209-223.

Bignot, G.

- 1988 *Los microfósiles. Los diferentes grupos. Aplicaciones paleobiológicas y geológicas*. Traducción de I. Meléndez, revisión y adaptación de B. Meléndez. Madrid: Paraninfo.

Branemark, P. I. & J. Linström

- 1963 Shape of circulating blood corpuscles. *Biorheology* **1**: 139-142.

Briuer, F. L.

- 1976 New clues to stone tool function: plant and animal residues. *American Antiquity* **41**: 478-484.

Bull, B. S. & J. Breton-Gorius

- 1995 Morphology of the erythron. In Beutler, E. *et alii*: *Williams Hematology*. 5th. edition. New York [etc.]: McGraw-Hill, 349-363.

Bynum, W. F.

- 1986 Células de la sangre. In Bynum, W. F., E. J. Browne & R. Porter, Directores: *Diccionario de Historia de la Ciencia*. Traducción de Diorki, S.A. Barcelona: Herder, 90-91.

Cámara y Bayon, L. de la

- 1875 *Examen Científico-legal de las Manchas de Sangre. Discurso leído ante el claustro de catedráticos de la Universidad Central*. Madrid: Imprenta y Fundición de Manuel Tello.

Carracedo, A.

- 1985 Typing of serum protein genetic markers in bloodstains using isoelectric focusing. In Lee, H. C. & R. E. Gaensslen, Editors: *Advances in Forensic Science*. Foster City, CA: Biomedical Publications.

Castoldi, G. L.

- 1981 Erythrocytes. In Zucker-Franklin, D. *et alii*, Editors: *Atlas of Blood Cells. Function and Pathology*. Milano/Philadelphia: Ermes/Lea & Febiger, 35-145.

Cattaneo, C. *et alii*

- 1993 Blood residues on stone tools: indoor ant outdoor experiments. *World Archaeology* **25**: 29-43.

Clarke, J. A. & A. J. Salsbury

- 1967 Surface ultramicroscopy of human blood cells. *Nature* **215**: 402-404.

Claugher, D. & P. D. Taylor

- 1992 Electron Microscopy. In Briggs, D. E. G. & P. R. Crowther, Editors: *Palaeobiology. A synthesis*. Paperback reissue with corrections. Oxford [etc.]: Blackwell Scientific Publications, 508-511.

Culliford, B. J.

- 1971 *The Examination and Typing of Bloodstains in the Crime Laboratory.* Washington, D.C.: National Institute of Law Enforcement and Criminal Justice.

Chien, S.

- 1975 Biophysical behavior of red cells in suspensions. In Surgenor, D. M., Editor: *The Red Blood Cell*. 2nd. edition. Volume 2. New York: Academic Press, 1031-1131.

Chien, S. & L. A. Sung

- 1990 Molecular basis of red cell membrane rheology. *Biorheology* **27**: 589-597.

Dintenfass, L.

- 1971 *Blood Microrheology. Viscosity factors in blood flow, ischaemia and thrombosis.* London [etc.]: Butterworths.
- 1976 *Rheology of Blood in Diagnostic and Preventive medicine. An introduction to clinical haemorheology.* London [etc.]: Butterworths.

Dittmer, D. S., Editor

- 1961 *Blood and Other Body Fluids.* Washington, DC: Federation of American Societies for Experimental Biology.

Dixon, T. R. *et alii*

- 1976 A scanning electron microscope study of dried blood. *Journal of Forensic Sciences* **21**: 797-803.

Erlich, H. A.

- 1989 Preface. In Erlich, H. A., Editor: *PCR Technology. Principles and applications for DNA amplification.* New York [etc.]: Stockton Press, iii-iv.

Erslev, A. J. & E. Beutler

- 1995 Production and destruction of erythrocytes. *In* Beutler, E *et alii*:
Williams Hematology. 5th. edition. New York [etc.]: McGraw-Hill,
425-440.

Fawcett, D. W. & E. Raviola

- 1994 *Bloom and Fawcett, a Textbook of Histology*. 12th. edition. New York-
London: Chapman & Hall.

Fiori, A.

- 1962 Detection and identification of bloodstains. *In* Lundquist, F., Editor:
Methods of Forensic Science. Volume 1. New York-London: John
Wiley & Sons, 243-290.

Fullagar, R, Editor

- 1998 *A Closer Look. Recent Australian studies of stone tools*. Sydney:
Archaeological Computing Laboratory, School of Archaeology,
University of Sydney.

Gaensslen, R. E., Compiler and Editor

- 1983 *Sourcebook in Forensic Serology, Immunology, and Biochemistry*. Unit
IX: Translations of Selected Contributions to the Original Literature of
Medicolegal Examinations of Blood and Body Fluids. Washington,
D.C.: U.S. Department of Justice, National Institute of Justice.

Geberth, V. J.

- 1996 *Practical Homicide Investigation. Tactics, procedures, and forensic
techniques*. 3rd. edition. CRC Series in practical aspects of criminal and
forensic investigations No. 16. Boca Raton [etc.]: CRC Press LLC.

Geyh, M. A. & H. Schleicher

- 1990 *Absolute Age Determination. Physical and chemical dating methods and their application.* English by R. Clark Newcomb. Berlín [etc.]: Springer-Verlag.

Goldstein, J. I. *et alii*

- 1992 *Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis. A text for biologists, materials scientists, and geologists.* 2nd. edition. New York/London: Plenum Press.

Gorski, A.

- 1997 Material residues on stone tool edges: is optical microscopy missing an opportunity? *The Microscope* **45**: 89-92.

Gramly, R. M.

- 1991 Blood residues upon tools from the East Wenatchee Clovis site, Douglas County, Washington. *Ohio Archaeologist* **41**: 4-9.
- s.f. East Wenatchee Clovis site [en línea]. *Archaeological Reports.* Lancaster, OH: The Archaeological Society of Ohio. URL: <<http://www.ohioarch.org/ArchaeologicalReports.htm>>.

Guest, M. M., J. R. Derrick & T. P. Bond

- 1971 Altered rheology in human microcirculation resulting from abnormal erythrocytes. *Biorheology* **8**: 59-64.

Gutián, F.

- 1964 *Técnicas de Análisis de Suelos: Experiencias de campo.* Madrid: C.S.I.C.

Gurfinkel, D. M. & U. M. Franklin

- 1988 A study of the feasibility of detecting blood residues on artifacts. *Journal of Archaeological Science* **15**: 83-97.

Gwinn, R. P., Chairman, Board of Directors

- 1987 *The New Encyclopædia Britannica*. 15th. edition. Volume 11. Entrada:
"Swammerdam, Jan". Chicago [etc.]: Encyclopædia Britannica, Inc.

Harada, A. *et alii*

- 1987 A new method for typing haptoglobin in bloodstains using immobilized
allo A lectin. *Journal of Forensic Sciences* **32**: 1062-1064.

Hardesty, D. L.

- 1979 *Antropología Ecológica*. Traducción de R. Aiguabella y F. Riera,
revisión de J. Miró. Barcelona: Bellaterra.

Hardy, B. L., V. Raman & R. A. Raff

- 1997 Recovery of Mammalian DNA from Middle Palaeolithic Stone Tools.
Journal of Archaeological Science **24**: 601-611.

Hawkey, C. M. & T. B. Dennet

- 1989 *Atlas de Hematología Veterinaria Comparada. Células sanguíneas
normales y anormales en mamíferos, aves y reptiles*. Traducción de M.
Lloria, revisión de S. Lavín. Barcelona: Grass.

Hayden, B., Editor

- 1979 *Lithic use-wear analysis*. New York: Academic Press.

Heinzelin, J. de *et alii*

- 1999 Environment and behavior of 2.5-million-year-old Bouri hominids.
Science **284**: 625-629.

Hyland, D. C. *et alii*

- 1990 Identification of the species of origin of residual blood on lithic
material. *American Antiquity* **55**: 104-112.

Inman K. & N. Rudin

2000 *Principles and Practice of Criminalistics. The Profession of Forensic Science.* Boca Raton [etc.]: CRC Press LLC.

Jain, N. C.

1986 *Schalm's Veterinary Hematology.* 4th. edition. Philadelphia: Lea & Febiger.

Kirk, P. L.

1953 *Crime Investigation. Physical evidence and the police laboratory.* New York-London: Interscience.

Laughlin, W. S. & B. Harper

1988 Peopling of the continents: Australia and America. In Mascie-Taylor, C. G. N. & G. W. Lasker, Editors: *Biological Aspects of Human Migration.* Cambridge [etc.]: Cambridge University Press, 14-40.

LeBlond, P. F. & R. Shoucri

1978 Calculation of surface area and volume of human erythrocytes from scanning electron micrographs. *Journal of Microscopy* **113**: 161-170.

Lee, W. M. F. & C. V. Dang

2000 Control of cell growth and differentiation. In Hóffman, R. *et alii*, Editors: *Hematology. Basic principles and practice.* 3rd. edition. New York [etc.]: Churchill Livingstone.

Lee, H. C. & E. M. Pagliaro

2000 Blood Identification. In Siegel, J. A., P. J. Saukko & G. C. Knupfer, Editors: *Encyclopedia of Forensic Sciences.* Volume 3: Geographical profiling-Wood analysis. San Diego, CA [etc.]: Academic Press, 1331-1338.

- Lewis, A. E.
1970 *Principles of Hematology*. London: Butterwoths.
- Locquin, M. & M. Langeron
1985 *Manual de Microscopia*. Traducción de M. Durfort. Barcelona: Labor.
- López, L.
1953 *Técnica Médico-Legal*. Volumen I: Criminalística. Valencia: Saber.
- Lowe, G. D. O.
1987 Blood rheology in vitro and in vivo. In Lowe, G. D. O., guest Editor: *Blood Rheology and Hyperviscosity Syndromes*. Baillière's Clinical Haematology. Volume 1, n. 3. London [etc.]: Baillière Tindall, 597-636.
- Lowenstein, J. M.
1993 Immunospecificity of fossil proteins. Implications for the establishment of evolutionary trends. In Engel, M. H. & S. A. Macko, Editors: *Organic Geochemistry. Principles and applications*. New York-London: Plenum Press, 817-827.
- Loy, T. H.
1983 Prehistoric blood residues: detection on tool surfaces and identification of species of origin. *Science* **220**: 1269-1271.
1987 Recent advances in blood residue analysis. In Ambrose, W. R. & J. M. J. Mummery, Editors: *Archaeometry: Further Australasian Studies*. Canberra: Australian National University, 7-65.
1992 Detection, amplification and identification of 2800 year old DNA from blood residues on prehistoric stone tools. *Ancient DNA Newsletter* **1**: 20.

Loy, T. H.

- 1998 Organic residues on Oldowan tools from Sterkfontein Cave, South Africa. *In* Raath, M. A., H. Soodyall, K. L. K. D. Barkhan & P. V. Tobias, Editors: *Dual Congress of the International Association for the Study of Human Paleontology, and International Association of Human Biologists*. Johannesburg: Department of Anatomical Sciences, University of the Witwatersrand Medical School, 74-75.

Loy, T. H. & E. J. Dixon

- 1998 Blood residues on fluted points from eastern Beringia. *American Antiquity* **63**: 21-46.

Loy, T. H. & B. G. Hardy

- 1992 Blood residue analysis of 90,000 year old stone tools from Tabun Cave, Israel. *Antiquity* **66**: 24-35.

Loy, T. H. & K. I. Matthaei

- 1994 Species of origin determination from prehistoric blood residues using ancient genomic DNA. *Australasian Biotechnology* **4**: 161-162.

Loy, T. H. & A. R. Wood

- 1989 Blood residue analysis at Çayönü Tepesi, Turkey. *Journal of Field Archaeology* **16**: 451-460.

Loy, T. H. *et alii*

- 1990 Accelerator radiocarbon dating of human blood proteins in pigments from Late Pleistocene art sites in Australia. *Antiquity* **64**: 110-116.

Luis, J. V. de

- 1990 *Policía Científica*. Volumen II: Técnica policial. Valencia: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Valencia.

MacDonald, R. C. *et alii*

- 1994 Atomic force microscopy of the erythrocyte skeleton suggests a new mechanism of elasticity. *Molecular Biology of the Cell (supplement)* **5**: 418a.

Marill, M. R.

- 1990 La célula. Generalidades. In Woessner, S., Editor: *Técnicas en Citología Hematológica. Morfología, Citoquímica, Inmunología, Ultraestructura, Cultivos in vitro, Citogenética y Biopsias medulares*. Barcelona: Medici, 1-15.

Mata, P.

- 1912 *Tratado Teórico-Práctico de Medicina Legal y Toxicología*. 6ª edición. Tomo 3: Medicina Legal. Madrid: Bailly-Bailliere.

McDonald, G. A., J. Paul & B. Cruickshank

- 1989 *Atlas de Hematología*. 5ª edición. Traducción de M. A. Marino. Madrid: Editorial Médica Panamericana.

Miki, T., A. Kai & M. Ikeya

- 1987 Electron spin resonance of bloodstains and its application to the estimation of time after bleeding. *Forensic Science International* **35**: 149-158.

Nelson, D. E. *et alii*

- 1986 Radiocarbon dating blood residues on prehistoric tools. *Radiocarbon* **28**: 170-174.

Newell, L.

- 1997 Diet and health in ancient and living populations. *Human Evolution* **12**: 47-52.

Newman, M. & P. Julig

- 1989 The identification of protein residues on lithic artifacts from a stratified boreal forest site. *Journal Canadien d'Archéologie/Canadian Journal of Archaeology* **13**: 119-132.

Newman, M. E., H. Ceri & B. Kooyman

- 1996 The use of immunological techniques in the analysis of archaeological materials – a response to Eisele; with report of studies at Head-Smashed-In Buffalo Jump. *Antiquity* **70**: 677-682.

Nickolls, L. C.

- 1962 The identification of stains of nonbiological origin. In Lundquist, F., Editor: *Methods of Forensic Science*. Volume 1. New York-London: John Wiley & Sons, 335-371.

Parenti, U.

- 1973 *Diccionario de Zoología*. Traducción de F. Gil. Barcelona: Teide.

Pawlicki, R. & M. Nowogrodzka-Zagorska

- 1998 Blood vessels and red blood cells preserved in dinosaur bones. *Anatomischer Anzeiger* **180**: 73-77.

Platt, W. R.

- 1982 *Atlas de Hematología en Color*. 2ª edición. Traducción de M. Fraile. Barcelona: Jims.

Postigo, L.

- 1974 *Matemáticas*. Barcelona: Ramón Sopena.

Rabino-Massa, E. *et alii*

- 1967 Presenza di globuli rossi nei tessuti di mummie Egiziane. *Bollettino della Società Italiana di Biologia Sperimentale* **43**: 1333-1334.

Ratcliffe, N. A. & D. A. Millar

- 1988 Comparative aspects and possible phylogenetic affinities of vertebrate and invertebrate blood cells. *In* Rowley, A. F. & N. A. Ratcliffe, Editors: *Vertebrate Blood Cells*. Cambridge [etc.]: Cambridge University Press.

Reithmeier, R. A. F. *et alii*

- 1993 Molecular characterization of the erythrocyte chloride-bicarbonate exchanger. *In* Reuss, L., J. M. Russell, Jr. & M. L. Jennings, Editors: *Molecular Biology and Function of Carrier Proteins*. New York: The Rockefeller University Press, 162-168.

Richards, T.

- 1982 Stone tools and blood residues from Thorpe Common rockshelter. *Cave Science* **16**: 106-107.

Riddle, J. M. *et alii*

- 1976 Peripheral blood elements found in an Egyptian mummy: a three-dimensional view. *Science* **192**: 374-375.

Rivet, P.

- 1960 *Los Orígenes del Hombre Americano*. 2ª edición. Traducción de J. Recasens y C. Villegas. México, D.F.: Fondo de Cultura Económica.

Robertis, E. D. P. de & E. M. F. de Robertis

- 1986 *Biología Celular y Molecular*. 11ª edición. Barcelona [etc.]: El Ateneo.

Rodríguez, X. P.

1998 *Los Sistemas Técnicos de Producción Lítica del Pleistoceno Inferior y Medio de la Península Ibérica: Variabilidad Tecnológica entre Yacimientos del Nordeste y de la Sierra de Atapuerca* [Microforma de Tesis Doctoral]. Tarragona: Servei de Publicacions de la Universitat Rovira i Virgili.

Rothstein, G.

1993 Origin and development of the blood and blood-forming tissues. In Lee, G. R. et alii: *Wintrobe's Clinical Hematology*. 9th. edition. Volume 1. Philadelphia-London: Lea & Febiger, 41-78.

Routh, J. I., D. P. Eyman & D. J. Burton

1975 *Compendio Esencial de Química General, Orgánica y Bioquímica*. Volumen 2. Traducción de J. M. Ribó, J. Bosch y E. Pedroso, revisión de R. Granados. Barcelona [etc.]: Reverté.

Rozman, C. et alii

1990 *Ultraestructura Celular en Hematología*. 2ª edición. Barcelona [etc.]: Salvat.

Saforcada, M.

1913 *Examen Médico-Legal de las Manchas de Sangre*. Publicado en la revista *Therapia*, núm. 51. Barcelona: J. Horta, impresor.

Scott, R. B.

1966 Comparative hematology: the phylogeny of the erythrocyte. *Blut* 12: 340-351.

Schalm, O. W.

1964 *Hematología Veterinaria*. Traducción de P. Franco, revisión de J. Oteiza. México, D.F.: Uteha.

Schmidt-Nielsen, K.

1997 *Animal Physiology. Adaptation and environment*. 5th. edition. Cambridge [etc.]: Cambridge University Press.

Schmidt-Nielsen, K. & C. R. Taylor

1968 Red blood cells: why or why not?. *Science* **162**: 274-275.

Schumacher, S. v.

1974 *Compendio de Histología Humana*. 7ª edición. Dirección de G. Sauser. Traducción de R. Álvarez Zamora y A. Martínez Muñoz, revisión de J. Vilahur. Barcelona: Labor.

Shutler, G. G. & D. C. Tompkins

1988 Bloodstain characterization in the EAP, Hp, Hb, AK and Glo I typing systems using minigels and the PhastSystem™. *Forensic Science International* **39**: 97-104.

Seiverd, C. E.

1983 *Hematology for Medical Technologists*. 5th. edition. Philadelphia: Lea & Febiger.

Semaw, S.

2000 The world's oldest stone artefacts from Gona, Ethiopia: Their implications for understanding stone technology and patterns of human evolution between 2.6-1.5 million years ago. *Journal of Archaeological Science* **27**: 1197-1214.

Semenov, S. A.

- 1964 *Prehistoric Technology. An experimental study of the oldest tools and artefacts from traces of manufacture and wear.* Traducción y prefacio de M. W. Thompson. London: Cory, Adams & Mackay.

Sensabaugh, G. F.

- 1994 DNA typing of biological evidence material. In Herrmann, B. & S. Hummel, Editors: *Ancient DNA. Recovery and analysis of genetic material from paleontological, archaeological, museum, medical, and forensic specimens.* New York [etc.]: Springer-Verlag, 141-148.

Shafer, H. J. & R. G. Holloway

- 1979 Organic residue analysis in determining stone tool function. In Hayden, B., Editor: *Lithic use-wear analysis.* New York: Academic Press, 385-399.

Shipman, P., D. C. Fisher & J. J. Rose 1984

- 1984 Mastodon butchery: microscopic evidence of carcass processing and bone tool use. *Paleobiology* **10**: 358-365.

Simonin, C.

- 1966 *Medicina Legal Judicial.* 2ª edición. Traducción de G. L. Sánchez Maldonado. Barcelona: Jims.

Smith, J. E.

- 1995 Comparative hematology. In Beutler, E *et alii*: *Williams Hematology.* 5th. edition. New York [etc.]: McGraw-Hill, 77-85.

Stanley, S. M.

- 1992 An ecological theory for the origin of *Homo*. *Paleobiology* **18**: 237-257.

Stout, D. *et alii*

2000 Stone tool-making and brain activation: Position Emission Tomography (PET) studies. *Journal of Archaeological Science* **27**: 1215-1223.

Tokunaga, J., T. Fujita & A. Hattory

1969 Scanning electron microscopy of normal and pathological erythrocytes. *Archivum Histologicum Japonicum/Nippon Soshikigaku Kiroku* **31**: 21-35.

Toth, N., D. Clark & G. Ligabue

1992 Los últimos fabricantes de hachas de piedra. Traducción de J. Enamorado. *Investigación y Ciencia. Edición española de Scientific American* **192**: 6-11.

Tuross, N. & T. D. Dillehay

1995 The mechanism of organic preservation at Monte Verde, Chile, and one use of biomolecules in archaeological interpretation. Augmented title: blood residues on stone tools. *Journal of Field Archaeology* **22**: 97-110.

Tuross, N., I. Barnes & R. Potts

1996 Protein Identification of Blood Residues on Experimental Stone Tools. *Journal of Archaeological Science* **23**: 289-296.

Turquier, Y.

1993 La invención de la sangre en los animales. Traducción de J. Pericay. *Mundo Científico. La Recherche, versión en castellano* **13**: 636-640.

Vaquero, M.

- 1998 *Tecnología Lítica y Comportamiento Humano: Organización de las Actividades Técnicas y Cambio Diacrónico en el Paleolítico Medio del Abric Romani (Capellades, Barcelona)* [Microforma de Tesis Doctoral]. Tarragona: Servei de Publicacions de la Universitat Rovira i Virgili.

Vargas-Alvarado, E.

- 1991 *Medicina Forense y Deontología Médica. Ciencias forenses para médicos y abogados*. México, D.F.: Trillas.

Vermeersch, P. M., E. Paulissen & P. van Peer

- 1990 Le Paléolithique de la Vallée du Nil égyptien. *L'Anthropologie* **94**: 435-458.

Villanueva, E.

- 1998 Los indicios en Medicina legal. In Gisbert, J. A., Director: *Medicina Legal y Toxicología*. 5ª edición. Barcelona [etc.]: Masson, 1103-1128.

Voet, D., J. G. Voet & C. W. Pratt

- 1999 *Fundamentals of Biochemistry*. New York [etc.]: John Wiley & Sons.

Ware, J. A. & B. S. Coller

- 1995 Platelet morphology, biochemistry, and function. In Beutler, E. *et alii*: *Williams Hematology*. 5th. edition. New York [etc.]: McGraw-Hill, 1161-1201.

Woessner, S. *et alii*

- 1983 Sinus endothelial cells of the human spleen: cytological, cytochemical and ultrastructural characteristics. *Revista de Diagnóstico Biológico* **32**: 38-45.

Zhang, S.

1999 *An Atlas of Histology*. New York [etc.]: Springer.

Zimmerman, M. R.

1973 Blood cells preserved in a mummy 2000 years old. *Science* **180**: 303-304.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
MORFOLOGÍA DE ERITROCITOS DE MAMÍFERO EN MANCHAS DE SANGRE: ESTUDIO SOBRE MATERIALES
LÍTICOS DE INTERÉS TECNOPREHISTÓRICO
Policarp Hortolà i Gómez
ISBN:978-84-691-1906-8/D.L: T-356-2008

9. TABLAS

9.1. Características de las muestras estudiadas

ANT.	MUESTRA	ESPECIE	IND.	ED.	SEXO	N.M.I.	A.M.E.	SUBST.
1	S(H)170690-1M	humana	1	31	varón	1	13	sílex
2	P(H?)150691	humana (?)	2 (?)	?	?	1	150*	papel
2	S(H)170690-2M	humana	1	31	varón	1	11	sílex
3	S(H)101289	humana	1	31	varón	1	35	sílex
3	S(H)170690-3M	humana	1	31	varón	1	9	sílex
4	I(H)160391	humana	1	32	varón	8	9 (Σ)	a. inox.
6	S(T)131289/1	pécari	1	10 (~)	hembra	1	25	sílex
6	S(H)170690-6M	humana	1	31	varón	1	21	sílex
8 (~)	A(H?)~1189	humana (?)	3 (?)	?	?	1 (2 f.e.)	25* (Σ)	asfalto
12	S(T)131289/2	pécari	1	10 (~)	hembra	1	700	sílex
12	S(D)131289	gacela	1	3 (~)	hembra	1	350	sílex
12	S(H)180191	humana	1	32	varón	1	35	sílex
12	S(H)170690-12M	humana	1	31	varón	1	13	sílex
18	G(H)180790	humana	1	31	varón	1	100	grauvaca
18	S(H)170690-18M	humana	1	31	varón	1	8	sílex
24	S(H)170690-24M	humana	1	31	varón	1	12	sílex
36	S(H)170690-36M	humana	1	31	varón	1	6	sílex
90	O(H)281292	humana	4	32	mujer	1	55	obsidiana
105	Z(H)030991	humana	1	32	varón	3	58 (Σ)	caliza
122	S(H)280390	humana	5	28	varón	1	30	sílex

Leyenda: A = substrato de asfalto, A.M.E. = área manchada examinada (mm², ~), ANT. = antigüedad (meses), ED. = edad (años), f.e. = fragmentos estudiados, G = substrato de grauvaca, H = sangre humana, I = substrato de acero inoxidable, IND. = individuo, M = mese(es), N.M.I. = número de manchas individuales, O = substrato de obsidiana, P = substrato de papel, S = substrato de sílex, Σ = suma del área manchada estudiada, SUBST. = substrato, T = sangre de tayasuino (pécari de collar), Z = substrato de caliza, /1 = fragmento 1, /2 = fragmento 2.

* No se incluye el área utilizada para el screening *in situ*.

9.2. Determinación de los materiales líticos sustrato de las manchas estudiadas

PROCEDENCIA	bloque	(guijarro)	canto rodado	(guijarro)
UBICACIÓN	flanco carretera	(trinchera FFCC)	riera de Ribes	(GMC)
LOCALIDAD	Ulldemolins	(Sitges)	St. Pere de Ribes	(U.R.S.S.)
COLOR	blanco	gris oscuro	gris medio	gris medio
TEXTURA	granuda	granuda	granuda	hipohialina
BRILLO	ceroso	mate	mate	vítreo
DIAFANIDAD	translúcido	opaco	opaco	translúcido
FRACTURA	concoidal	concoidal	concoidal	concoidal
GRANO	muy fino	fino	muy fino	ausente
EFERVESC.	no	no	sí	no
MAGNETISMO	no	no	no	no
GUSTO	insípido	insípido	insípido	insípido
MINER. PRAL.	no estudiada	cz, fl, bt (mac) *	no estudiada	no estudiada
CONCLUSIÓN	sílex	grauvaca	caliza	obsidiana

Leyenda: bt = biotita, cz = cuarzo, EFERVESC. = efervescencia al HCl 10% v/v, fl = feldespato, FFCC = ferrocarriles, GMC = Grup Minerològic Català (Barcelona), mac = mineral de la arcilla, MINER. PRAL. = mineralogía principal, () = dato más aproximado conocido.

* Estudio mediante lámina fina realizado por el Dr. Ramon Salas, Profesor Titular del Departamento de Geoquímica, Petrología y Prospección Geológica (Universidad de Barcelona).

9.3. Detalles de los materiales no líticos substrato de las manchas estudiadas y descripción de las mismas

MATERIAL	PROCEDENCIA	UBICACIÓN	C.S.	F.M.	M.P.
papel	pañuelo	acera de vía pública	blanco	gota*	proyección
acer. inox.	punta de bisturí	(W. R. Swann Co. Ltd.)	plateado	impresión	contacto
asfalto	paso de cebra	calzada de vía pública	gr. obsc.	charco	escurrimiento

Leyenda: acer. inox. = acero inoxidable, C.S. = color del substrato, F.M. = forma de las manchas, gr. obsc. = gris oscuro, M.P. = mecanismo de producción, () = dato más aproximado conocido.

* Altura de caída h (cm), basada en el patrón de salpicaduras de la sangre de Kirk (1953): $38 < h < 53$.

9.4. Determinación de falsos positivos (evaluación de la especificidad) en las tiras reactivas de urianálisis Rapignost® Total-Screen L

MATERIAL	CM	0 s			15 s			30 s			60 s			120 s		
		Alb	Hb	CZC	Alb	Hb	CZC	Alb	Hb	CZC	Alb	Hb	CZC	Alb	Hb	CZC
sangre epitelial	r.m.	≥500	+++	r.c.	≥500	+++	r.c.	≥500	+++	r.c.	≥500	+++	r.c.	≥500	+++	r.c.
sangre muscular	r.c.	≥500	+++	r.c.	≥500	+++	r.c.	≥500	+++	r.c.	≥500	+++	r.c.	≥500	+++	r.c.
vino tinto	r.o.	-	-	r.o.	-	-	r.o.	-	-	r.o.	-	-	r.o.	-	-	r.o.
salsa de chiles	r.m.	-	-	r.c.	-	-	r.c.	-	-	r.c.	-	-	r.c.	-	-	r.c.
ketchup	r.o.	-	-	r.m.	-	-	r.m.	-	-	r.m.	-	-	r.m.	-	-	r.m.
tomate frito	r.m.	-	-	r.m.	-	-	r.m.	-	-	r.m.	-	-	r.m.	-	-	r.m.
ciruela roja	r.c.	-	-	r.c.	-	-	r.c.	-	-	r.c.	-	-	r.c.	-	trazas	r.c.
clara de huevo	a.m.c.	≥500	-	blanco	≥500	-	blanco	≥500	-	blanco	≥500	-	blanco	≥500	-	blanco
leche	blanco	100	-	blanco	100	-	blanco	100-≥500	-	blanco	100-≥500	-	blanco	100-≥500	-	blanco
acelga	v.o.	-	+	v.c.	trazas	+	v.c.	trazas	+	v.c.	trazas	+	v.c.	trazas	+	v.c.
acelga (regenerado-1/2)	n.a.	-	trazas	v.m.c.	-	trazas	v.m.c.	-	trazas	v.m.c.	-	trazas	v.m.c.	-	+	v.m.c.
acelga (regenerado-1/4)	n.a.	-	trazas	blanco	-	trazas	blanco	-	trazas	blanco	-	trazas	blanco	-	+	blanco
acelga (regenerado-1/8)	n.a.	-	-	blanco	-	-	blanco	-	-	blanco	-	-	blanco	-	-	blanco
suelo	negro	-	-	g.o.	-	-	g.o.	-	-	g.o.	-	trazas	g.o.	-	trazas	g.o.
sedimento	m.m.	-	-	m.c.	-	-	m.c.	-	-	m.c.	-	-	m.c.	-	-	m.c.
AMR	n.a.	-	-	blanco	-	-	blanco	-	-	blanco	-	-	blanco	-	-	blanco
ADD	n.a.	-	-	blanco	-	-	blanco	-	-	blanco	-	-	blanco	-	-	blanco

Legenda: CM = color de la mancha, Alb = albúmina, Hb = hemoglobina, CZC = color de la zona de compensación (control negativo de coloración), r.o. = rojo obscuro, r.m. = rojo medio, r.c. = rojo claro, a.m.c. = amarillo muy claro, g.o. = gris obscuro, m.m. = marrón medio, m.c. = marrón claro, v.c. = verde obscuro equivalente a Hb = +++, v.c. = verde claro equivalente a Hb = +, v.m.c. = verde muy claro equivalente a Hb = trazas, AMR = *agua mineral de la red, ADD = agua destilada desionizada (control negativo de solvente), n.a. = no aplicable, - = negativo.

9.5. Calibración de la estación meteorológica analógica TEM[®]

9.5.1. Generalidades

La calibración fue realizada en el Departamento de Astronomía y Meteorología (anteriormente, Física de la Atmósfera, DFA) de la Facultad de Física de la Universidad de Barcelona, por parte de la Dra. Maria Rosa Soler, Profesora Titular de dicho departamento.

La metodología utilizada fue la lectura simultánea y en el mismo lugar geográfico, de los valores atmosféricos en la estación meteorológica utilizada en el estudio (TEM) y en una sonda electrónica de temperatura y humedad relativa HMP35AC[®] (Campbell Scientific, Inc., Logan, EE.UU.) del DFA.

Los resultados obtenidos fueron las ecuaciones de las rectas de regresión estadística ($y = ax + b$) para los valores de la TEM frente a los del DFA, cuyo interés práctico es poder estimar un valor de y (DFA) a partir de otro dado de x (TEM).

9.5.2. Características técnicas de la estación meteorológica TEM[®]

El termómetro del aparato es de dilatación, en el cual la longitud de una columna de mercurio que está contenido en un tubo de vidrio graduado es función directa de la temperatura. El higrómetro es de absorción, en el que la longitud de la tira de material higroscópico, que está unida a una aguja indicadora, varía en función de la humedad relativa del aire.

Los rangos de medición del aparato son de -12 - $+50$ °C para el termómetro, y de 20-100% para el higrómetro. Sus respectivos límites de error son de $\pm 0,5$ °C para el termómetro, y $\pm 0,5$ % para el higrómetro.

9.5.3. Características técnicas de la sonda electrónica HMP35AC[®]

La temperatura es medida por un termistor, en el cual la resistencia eléctrica de un semiconductor es función inversa de la temperatura. La humedad relativa es medida por un sensor de capacitancia, en el cual las variaciones de la humedad relativa hacen variar las propiedades dieléctricas de una placa delgada de un polímero y, con ello, la capacitancia del sensor. La electrónica del instrumento mide la resistencia eléctrica y la capacitancia y las convierte, respectivamente, en valores de temperatura y humedad relativa.

9.5.4. Temperatura

El error sistemático del aparato de medida TEM resultó seguir una única recta de regresión y/x respecto al instrumental del DFA a lo largo de todo el rango de temperatura del aire:

RANGO	ECUACIÓN
$10 \leq t^{\circ}\text{C TEM} \leq 40$	$y = 0,9954x - 1,0061$

9.5.5. Humedad relativa

El error sistemático del aparato de medida TEM resultó seguir tres rectas de regresión y/x distintas respecto al instrumental del DFA, en función de los rangos de humedad relativa del aire:

RANGO	ECUACIÓN
$\text{HR\% TEM} < 66$	$y = 0,2857x + 21,7143$
$73 < \text{HR\% TEM}$	$y = 0,7778x + 18,6667$
$66 \leq \text{HR\% TEM} \leq 73$	$y = 4,7143x - 269,1432$

9.6. Estimación de los valores climatológicos: valores corregidos (y) para las lecturas directas del aparato meteorológico utilizado en la sala de mantenimiento de las muestras de manchas de sangre (x)

9.6.1. Temperatura

x	y	CONSIDERACIÓN METEOROLÓGICA*
-12	-13	
-11,5	-12,5	
-11	-12	
-10,5	-11,5	
-10	-11	
-9,5	-10,5	
-9	-10	
-8,5	-9,5	
-8	-9	
-7,5	-8,5	
-7	-8	
-6,5	-7,5	
-6	-7	
-5,5	-6,6	
-5	-6	
-4,5	-5,5	
-4	-5	
-3,5	-4,5	
-3	-4	
-2,5	-3,5	
-2	-3	
-1,5	-2,5	
-1	-2	
-0,5	-1,5	
0	-1	

x	y	CONSIDERACIÓN METEOROLÓGICA*
0,5	-0,5	
1	0	
1,5	0,5	
2	1	
2,5	1,5	
3	2	
3,5	2,5	
4	3	
4,5	3,5	
5	4	
5,5	4,5	
6	5	
6,5	5,5	
7	6	
7,5	6,5	
8	7	
8,5	7,5	
9	8	
9,5	8,5	
10	9	
10,5	9,5	
11	10	
11,5	10,5	
12	11	Temperatura media en invierno
12,5	11,5	
13	12	
13,5	12,5	
14	13	
14,5	13,5	
15	14	
15,5	14,5	
16	15	Temperatura media en otoño
16,5	15,5	

x	y	CONSIDERACIÓN METEOROLÓGICA*
17	16	
17,5	16,5	
18	17	Temperatura media en primavera
18,5	17,5	
19	18	
19,5	18,5	
20	19	
20,5	19,5	
21	20	
21,5	20,5	
22	21	
22,5	21,5	
23	22	
23,5	22,5	
24	23	
24,5	23,5	
25	24	Temperatura media en verano
25,5	24,5	
26	25	
26,5	25,5	
27	26	
27,5	26,5	
28	27	
28,5	27,5	
29	28	
29,5	28,5	
30	29	
30,5	29,5	
31	30	
31,5	30,5	
32	31	
32,5	31,5	
33	32	

x	y	CONSIDERACIÓN METEOROLÓGICA*
33,5	32,5	
34	33	
34,5	33,5	
35	34	
35,5	34,5	
36	35	
36,5	35,5	
37	36	
37,5	36,5	
38	37	
38,5	37,5	
39	38	
39,5	38,5	
40	39	
40,5	39,5	
41	40	
41,5	40,5	
42	41	
42,5	41,5	
43	42	
43,5	42,5	
44	43	
44,5	43,5	
45	44	
45,5	44,5	
46	45	
46,5	45,5	
47	46	
47,5	46,5	
48	47	
48,5	47,5	
49	48	
49,5	48,5	

x	y	CONSIDERACIÓN METEOROLÓGICA*
50	49	

* Temperatura del aire en la localidad de mantenimiento de las muestras con manchas de sangre; según Ajuntament de Barcelona (1995): *Barcelona. Guia de la ciutat*. Barcelona: Ajuntament de Barcelona.

9.6.2. Humedad relativa

x	y	CONSIDERACIÓN METEOROLÓGICA*
20	27,5	Humedad relativa baja (ambiente seco)
20,5	27,5	
21	27,5	
21,5	28	
22	28	
22,5	28	
23	28,5	
23,5	28,5	
24	28,5	
24,5	28,5	
25	29	
25,5	29	
26	29	
26,5	29,5	
27	29,5	
27,5	29,5	
28	29,5	
28,5	30	
29	30	
29,5	30	
30	30,5	
30,5	30,5	
31	30,5	

x	y	CONSIDERACIÓN METEOROLÓGICA*
31,5	30,5	Humedad relativa baja (ambiente seco)
32	31	
32,5	31	
33	31	
33,5	31,5	
34	31,5	
34,5	31,5	
35	31,5	
35,5	32	
36	32	
36,5	32	
37	32,5	
37,5	32,5	
38	32,5	
38,5	32,5	
39	33	
39,5	33	
40	33	
40,5	33,5	
41	33,5	
41,5	33,5	
42	33,5	
42,5	34	
43	34	
43,5	34	
44	34,5	
44,5	34,5	
45	34,5	
45,5	34,5	
46	35	
46,5	35	
47	35	
47,5	35,5	

x	y	CONSIDERACIÓN METEOROLÓGICA*
48	35,5	Humedad relativa baja (ambiente seco)
48,5	35,5	
49	35,5	
49,5	36	
50	36	
50,5	36	
51	36,5	
51,5	36,5	
52	36,5	
52,5	36,5	
53	37	
53,5	37	
54	37	
54,5	37,5	
55	37,5	
55,5	37,5	
56	37,5	
56,5	38	
57	38	
57,5	38	
58	38,5	
58,5	38,5	
59	38,5	
59,5	38,5	
60	39	
60,5	39	
61	39	
61,5	39,5	
62	39,5	
62,5	39,5	
63	39,5	
63,5	40	Humedad relativa media (ambiente normal)
64	40	

x	y	CONSIDERACIÓN METEOROLÓGICA*
64,5	40	
65	40,5	
65,5	40,5	
66	42	
66,5	44,5	
67	46,5	
67,5	49	
68	51,5	
68,5	54	
69	56	
69,5	58,5	
70	61	
70,5	63	
71	65,5	
71,5	68	
72	70	Humedad relativa alta (ambiente húmedo)
72,5	72,5	
73	75	
73,5	76	
74	76	
74,5	76,5	
75	77	
75,5	77,5	
76	78	
76,5	78	
77	78,5	
77,5	79	
78	79,5	
78,5	79,5	
79	80	
79,5	80,5	
80	81	
80,5	81,5	

x	y	CONSIDERACIÓN METEOROLÓGICA*
81	81,5	Humedad relativa alta (ambiente húmedo)
81,5	82	
82	82,5	
82,5	83	
83	83	
83,5	83,5	
84	84	
84,5	84,5	
85	85	
85,5	85	
86	85,5	
86,5	86	
87	86,5	
87,5	86,5	
88	87	
88,5	87,5	
89	88	
89,5	88,5	
90	88,5	
90,5	89	
91	89,5	
91,5	90	
92	90	
92,5	90,5	
93	91	
93,5	91,5	
94	92	
94,5	92	
95	92,5	
95,5	93	
96	93,5	
96,5	93,5	
97	94	

x	y	CONSIDERACIÓN METEOROLÓGICA*
97,5	94,5	Humedad relativa alta (ambiente húmedo)
98	95	
98,5	95	
99	95,5	
99,5	96	
100	96,5	

* Tipo de ambiente según especificación en el propio aparato meteorológico utilizado en el estudio.

9.7. Medidas meteorológicas de la sala de mantenimiento de las muestras de manchas de sangre

Leyenda:

- A = substrato de asfalto
- C = medidas corregidas
- D = medidas directas (*raw data*)
- f = fin del mantenimiento
- G = substrato de grauvaca
- (H) = sangre humana
- (H?) = sangre supuestamente humana
- H. L. = hora local
- HR% = humedad relativa del aire, en tanto por ciento
- i = inicio del mantenimiento
- I = substrato de acero inoxidable
- L = substrato de caliza
- M = mes(es)
- O = substrato de obsidiana
- P = substrato de papel
- S = substrato de sílex
- (T) = sangre de tayasuino (pécari de collar)
- t°C = temperatura del aire, en grados Celsius
- /1 = fragmento 1
- /2 = fragmento 2

H. L.	FECHA	t°C (D)	HR% (D)	t°C (C)	HR% (C)	COMENTARIO
16:10	111289	17	74	16	76	iS(H)101289
07:25	141289	13,5	73	12,5	75	
01:20	161289	15,5	77,5	14,5	79	
19:55	201289	15	83	14	83	iS(T)131289
21:20	241289	17	75	16	77	
19:35	291289	17	73	16	75	
13:45	301289	17,5	76,5	16,5	78	
17:00	050190	18	77	17	78,5	
22:10	080190	15,5	73	14,5	75	
15:40	120190	17	77	16	78,5	
22:45	150190	17,5	73	16,5	75	
15:35	180190	17	72	18	70	
19:25	180190	19	72	16	70	
20:35	200190	16	72,5	15	72,5	
15:30	240190	17,5	73,5	16,5	76	

H. L.	FECHA	t°C (D)	HR% (D)	t°C (C)	HR% (C)	COMENTARIO
21:00	270190	15	78	14	79,5	
02:20	300190	19	75	18	77	
17:50	050290	16,5	72	15,5	70	
18:00	090290	19	72	18	70	
19:10	140290	17	75,5	16	77,5	
12:40	180290	16,5	75,5	15,5	77,5	
21:35	240290	13	77	12	78,5	
19:40	280290	13	78,5	12	79,5	fS(H)101289
07:25	020390	18	75	17	77	
17:50	080390	21	74,5	20	76,5	
22:20	120390	17	70,5	16	63	
17:55	190390	21	72,5	20	72,5	
17:30	220390	22	71,5	21	68	
18:00	260390	19	70	18	61	iS(H)280390
18:10	310390	20,5	75	19,5	77	
19:05	030490	18	80	17	81	
17:45	130490	21	73,5	20	76	
18:55	170490	23	68	22	51,5	
00:30	250490	22	73	21	75	
12:50	300490	27	73,5	26	76	
14:15	050590	22	70	21	60	
17:30	080590	25,5	69	24,5	56	
19:55	080590	25	67	24	47,5	
14:05	140590	28	68,5	27	54	
17:10	230590	27	67	26	46,5	
12:40	260590	27	68	26	51,5	
18:55	310590	21	66,5	20	44,5	
18:10	050690	28	64	27	40	
17:35	120690	26,5	54	25,5	37	
13:55	160690	31	54	30	37	fS(T)131289/1
20:00	290690	32	66	31	42	iS(H)170690
15:00	300690	32	65	31	40,5	
23:00	300690	32	67	31	46,5	

H. L.	FECHA	t°C (D)	HR% (D)	t°C (C)	HR% (C)	COMENTARIO
14:00	070790	30	64	29	40	
03:00	090790	30	61	29	39	
10:00	090790	30	63	29	39,5	
06:15	120790	28	61	27	39	
20:00	150790	30	66	29	42	fS(H)170690-1M
14:30	210790	32	66	31	42	iG(H)180790
15:00	210790	32	65	31	40,5	
15:00	240790	33,5	63	32,5	39,5	
20:00	250790	32	67	31	46,5	
05:30	280790	30,5	69	29,5	56	
10:30	280790	30	69	29	56	
23:30	030890	33,5	57	32,5	38	
01:15	040890	33,5	58	32,5	38,5	
10:00	040890	32,5	60	31,5	39	
15:30	150890	32	61	31	39	
23:15	150890	31	65	30	40,5	fS(H)170690-2M
21:45	190890	30	70	29	61	
07:45	200890	29,5	71,5	28,5	68	
12:30	070990	28	71	27	65,5	
00:15	080990	27	72	26	70	
09:00	080990	26	72	25	70	
12:30	140990	30	71	29	65,5	
20:30	140990	30,5	71	29,5	65,5	fS(H)170690-3M
18:00	270990	27,5	73	26,5	75	
10:00	290990	27	74	26	76	
18:00	041090	24	75	23	77	
10:15	061090	24	69	23	56	
14:00	271090	23	70	22	61	
00:05	281090	21	70	20	61	
21:00	101190	18,5	78	17,5	79,5	
21:15	111190	20	75	19	77	
00:30	181190	21	76	20	78	
21:00	181190	21	75	20	77	

H. L.	FECHA	t°C (D)	HR% (D)	t°C (C)	HR% (C)	COMENTARIO
10:30	231190	16,5	74,5	15,5	76,5	
22:15	231190	16,5	73	15,5	75	
02:45	241190	16	75,5	15	77,5	
05:15	241190	16	75	15	77	
01:25	251190	16,5	77	15,5	78,5	
00:30	271190	16,5	76	15,5	78	
21:15	271190	15,5	76	14,5	78	
08:00	291190	14	76	13	78	
11:00	021290	14	75	13	77	
22:30	031290	15	76	14	78	
10:15	051290	15	78	14	79,5	
03:00	061290	15	77,5	14	79	
10:05	071290	15	78	14	79,5	
01:25	091290	15	80	14	81	
12:15	111290	14	79	13	80	
05:00	121290	13	79	12	80	
06:45	151290	13	77	12	78,5	
21:15	161290	15	80	14	81	fS(T)131289/2; fS(H)170690-6M
09:40	201290	13	80	12	81	
11:45	301290	18	76,5	17	78	
01:20	010191	17	79,5	16	80,5	
05:55	010191	17	80	16	81	
00:15	040191	16	75	15	77	
03:10	060191	15	75	14	77	
18:15	070191	12	74,5	11	76,5	
11:00	130191	15	76,5	14	78	
12:35	170191	14,5	77	13,5	78,5	
15:25	180191	14	78	13	79,5	iS(H)180191
09:25	220191	15	77,5	14	79	
21:15	260191	14	79,5	13	80,5	
00:00	310191	15	79,5	14	80,5	
01:10	020291	14,5	79	13,5	80	
22:00	020291	14	81,5	13	82	

H. L.	FECHA	t°C (D)	HR% (D)	t°C (C)	HR% (C)	COMENTARIO
11:45	030291	13,5	83	12,5	83	
06:05	130291	12	76,5	11	78	
16:50	160291	15	72	14	70	
01:15	170291	15	79	14	80	
02:30	230291	18	77,5	17	79	
21:30	240291	19	74,5	18	76,5	
16:15	250291	19,5	72	18,5	70	
07:45	280291	17	77,5	16	79	
00:10	040591	20	75	19	77	ii(H)160391
16:50	050591	18	75,5	17	77,5	
18:00	100591	17,5	76,5	16,5	78	
03:30	110591	17	75,5	16	77,5	
00:00	120591	19	76,5	18	78	
15:45	120591	21	74	20	76	
15:05	130591	23	71,5	22	68	
21:55	140591	24	69	23	56	
13:45	150591	25	70	24	61	
22:50	150591	24,5	72	23,5	70	
13:15	160591	23	72,5	22	72,5	
10:00	170591	21	73,5	20	76	
13:55	180591	21,5	74	20,5	76	
14:15	190591	22	72	21	70	
10:40	200591	21	74	20	76	
09:35	210591	21	73	20	75	
22:50	210591	24	70,5	23	63	
18:30	220591	25,5	64,5	24,5	40	
05:55	230591	23,5	67,5	22,5	49	
14:00	230591	27	66	26	42	
16:05	240591	28	65	27	40,5	
12:15	250591	28	65,5	27	40,5	
09:40	260591	24	70	23	61	
17:30	260591	26	68	25	51,5	
13:45	270591	27	66,5	26	44,5	

H. L.	FECHA	t°C (D)	HR% (D)	t°C (C)	HR% (C)	COMENTARIO
11:20	280591	25	70,5	24	63	
08:40	290591	23	72	22	70	
16:45	300591	25	69	24	56	
20:50	310591	25	71	24	65,5	
17:30	010691	25	70	24	61	
17:15	020691	25	72	24	70	
16:20	030691	27	70,5	26	63	
12:00	040691	25,5	74	24,5	76	
22:15	040691	25,5	72	24,5	70	
02:20	050691	25,5	72,5	24,5	72,5	
12:10	060691	26	72	25	70	
14:00	060691	26	71,5	25	68	
17:15	060691	26	71,5	25	68	
09:00	070691	24	73	23	75	
22:45	070691	25,5	72,5	24,5	72,5	
18:45	080691	27	69	26	56	
19:00	090691	28	67	27	46,5	
20:10	100691	28	68	27	51,5	
15:00	110691	28	65	27	40,5	
12:55	120691	28	68	27	51,5	
19:05	130691	29	64	28	40	
00:45	140691	28	67,5	27	49	
18:55	140691	29	64,5	28	40	
18:00	150691	29	61	28	39	iP(H?)150691
23:00	150691	28,5	64	27,5	40	
18:35	160691	29	65,5	28	40,5	
21:00	170691	26	66	25	42	
03:00	180691	25	68,5	24	54	
13:15	180691	25,5	65	24,5	40,5	
22:00	180691	25	67,5	24	49	
15:15	200691	25,5	71	24,5	65,5	
02:45	210691	25,5	73	24,5	75	
11:00	220691	28	68	27	51,5	

H. L.	FECHA	t°C (D)	HR% (D)	t°C (C)	HR% (C)	COMENTARIO
15:00	230691	30	63,5	29	40	
23:45	230691	29,5	63,5	28,5	40	
13:00	240691	32	60	31	39	
21:15	250691	31	60	30	39	
22:00	260691	31	67,5	30	49	fS(H)170690-12M
19:15	300691	29	63	28	39,5	
10:00	020791	27,5	68,5	26,5	54	
11:00	040791	28	65,5	27	40,5	
20:15	060791	30	64,5	29	40	
14:55	070791	31	57	30	38	
19:30	090791	33	57	32	38	
14:40	100791	34	59	33	38,5	
11:45	170791	31	67,5	30	49	
15:00	230791	33,5	64,5	32,5	40	
15:30	240791	33,5	64	32,5	40	fI(H)160391
16:40	260791	29	62	28	39,5	
12:35	280791	31	68,5	30	54	
00:05	300791	31	72	30	70	
07:25	010891	28,5	66	27,5	42	
20:55	020891	31	66,5	30	44,5	
13:15	060891	34,5	64	33,5	40	
22:30	060891	33	66	32	42	
19:10	070891	33,5	64,5	32,5	40	
10:15	080891	30,5	69,5	29,5	58,5	
13:00	080891	30	68	29	51,5	
13:00	130891	33	64,5	32	40	
20:05	130891	32	64	31	40	
10:00	140891	31	66	30	42	fP(H?)150691
15:30	170891	34	64	33	40	
01:50	180891	31,5	66	30,5	42	
19:25	210891	32	66	31	42	
13:55	300891	35	64,5	34	40	
12:10	010991	33	68	32	51,5	

H. L.	FECHA	t°C (D)	HR% (D)	t°C (C)	HR% (C)	COMENTARIO
10:50	040991	30,5	68	29,5	51,5	iL(H)030991
11:10	070991	30	67	29	46,5	
13:50	070991	31	64,5	30	40	
16:40	140991	30	65,5	29	40,5	
22:45	160991	30	72,5	29	72,5	
17:25	180991	32	65,5	31	40,5	
21:00	210991	30	70	29	61	
10:00	230991	29	72	28	70	
01:15	240991	29	68,5	28	54	
22:10	280991	25	64,5	24	40	
21:10	011091	25,5	65,5	24,5	40,5	
13:35	051091	24,5	75,5	23,5	77,5	
02:45	081091	22,5	71,5	21,5	68	
16:30	101091	27,5	74	26,5	76	
01:00	141091	24	70	23	61	
07:30	181091	22	70,5	21	63	
09:40	191091	22	72	21	70	
16:10	231091	18,5	71	17,5	65,5	
11:00	261091	19	75	18	77	
13:00	291091	22	69,5	21	58,5	
22:30	021191	21	77	20	78,5	
15:30	061191	21	66,5	20	44,5	
16:00	081191	20	68	19	51,5	
18:05	141191	19	71	18	65,5	
11:50	171191	19	71	18	65,5	
02:05	191191	18,5	74	17,5	76	
01:00	221191	15	75	14	77	
10:20	251191	14	73,5	13	76	
15:15	291191	19	79,5	18	80,5	
11:30	301191	18	80	17	81	
10:30	031291	16,5	80,5	15,5	81,5	
18:35	071291	15	77,5	14	79	
21:05	111291	13,5	84	12,5	84	

H. L.	FECHA	t°C (D)	HR% (D)	t°C (C)	HR% (C)	COMENTARIO
12:30	141291	14	81	13	81,5	
20:15	141291	14,5	83	13,5	83	
23:55	161291	15	82	14	82,5	fS(H)170690-18M
22:45	231291	18	73	17	75	
12:45	261291	17	74	16	76	
07:35	271291	14	77	13	78,5	
08:40	100192	12	76	11	78	
21:05	120192	14	79	13	80	
23:50	160192	14,5	75	13,5	77	
21:05	210192	14	76	13	78	
11:20	230192	12	78	11	79,5	
14:20	260192	18	76	17	78	
10:30	270192	15	79	14	80	
13:45	280192	17	76	16	78	
12:00	290192	14,5	79	13,5	80	fG(H)180790; fS(H)180191
12:30	040292	17	76	16	78	
16:45	090292	17	76	16	78	
17:00	120292	18	76	17	78	
15:00	160292	20	73	19	75	
10:40	190292	14	79	13	80	
13:10	190292	17	74,5	16	76,5	
00:45	210292	13,5	78	12,5	79,5	
19:40	240292	15	76,5	14	78	
01:10	250292	15	78	14	79,5	
00:25	290292	17	80	16	81	
18:10	050392	16	82	15	82,5	
20:35	080392	18	79	17	80	
21:00	110392	19	78	18	79,5	
08:35	120392	17	78,5	16	79,5	
11:50	170392	23	72	22	70	
19:20	170392	21	73,5	20	76	
13:50	200392	21	73,5	20	76	
16:35	240392	21	67,5	20	49	

H. L.	FECHA	t°C (D)	HR% (D)	t°C (C)	HR% (C)	COMENTARIO
10:45	280392	18	70	17	61	
01:10	010492	18	71,5	17	68	
19:35	060492	19,5	72	18,5	70	
11:10	100492	20	75,5	19	77,5	
13:40	100492	21	70,5	20	63	
03:10	120492	20,5	73,5	19,5	76	
12:40	160492	22	70	21	61	
01:45	180492	19	71,5	18	68	
23:10	200492	23	71,5	22	68	
13:45	250492	25	69	24	56	
20:45	290492	24	68	23	51,5	
12:50	020592	21	73,5	20	76	
11:15	060592	24	73	23	75	
12:15	090592	27	66	26	42	
19:10	110592	26	66	25	42	
12:00	140592	26	68,5	25	54	
18:55	170592	29	62	28	39,5	
00:05	180592	28,5	64	27,5	40	
13:00	200592	25,5	70	24,5	61	
17:45	240592	26	71,5	25	68	
18:15	270592	28	67	27	46,5	
16:45	300592	27,5	70	26,5	61	
22:20	310592	27	70	26	61	
14:05	010692	25	73	24	75	
15:20	040692	26	67,5	25	49	
11:30	070692	22	71,5	21	68	
00:05	110692	22	73	21	75	
02:30	140692	25	70	24	61	
01:30	160692	27	70	26	61	
16:20	160692	28	69	27	56	
23:30	160692	27	69,5	26	58,5	
13:25	170692	29	65	28	40,5	
16:30	170692	29	65	28	40,5	

H. L.	FECHA	t°C (D)	HR% (D)	t°C (C)	HR% (C)	COMENTARIO
22:40	170692	29	68	28	51,5	
11:50	180692	27	70	26	61	fS(H)170690-24M
11:35	220692	23	72	22	70	
00:35	240692	24,5	72	23,5	70	
13:00	270692	29,5	63	28,5	39,5	
21:05	280692	29,5	63,5	28,5	40	
15:20	020792	27,5	67	26,5	46,5	
22:20	030792	28	67,5	27	49	
20:15	050792	26,5	71,5	25,5	68	
22:05	080792	27	71,5	26	68	
17:15	120792	29	66,5	28	44,5	
18:05	150792	31	63	30	39,5	
19:45	180792	32	62	31	39,5	
22:30	200792	32	60	31	39	
16:05	230792	32	62	31	39,5	
01:45	260792	32	67	31	46,5	
01:20	280792	34	63,5	33	40	
20:30	280792	34	60,5	33	39	
00:30	010892	31	71,5	30	68	
10:05	040892	31,5	70	30,5	61	
09:35	090892	30	69,5	29	58,5	
14:35	090892	30	65,5	29	40,5	
20:20	120892	30	66	29	42	
09:40	150892	27,5	71	26,5	65,5	
13:25	180892	32	69	31	56	
22:55	230892	31	67	30	46,5	
12:00	250892	33	62	32	39,5	
22:15	310892	30	58,5	29	38,5	
18:30	040992	30	64,5	29	40	
19:25	080992	28	71,5	27	68	
09:00	120992	26	73,5	25	76	
13:45	120992	30	64	29	40	
12:55	130992	30	69	29	56	

H. L.	FECHA	t°C (D)	HR% (D)	t°C (C)	HR% (C)	COMENTARIO
20:05	160992	28,5	72	27,5	70	
12:15	190992	27	74	26	76	
13:05	240992	28	67	27	46,5	
12:30	260992	27	72	26	70	
19:20	280992	25,5	62,5	24,5	39,5	
21:10	011092	26,5	71	25,5	65,5	
07:30	051092	23	71	22	65,5	
20:20	081092	21,5	71,5	20,5	68	
10:05	121092	21,5	73	20,5	75	
09:25	181092	19,5	75	18,5	77	
19:35	181092	20	69,5	19	58,5	
19:50	201092	20	76	19	78	
00:45	241092	19,5	74	18,5	76	
02:50	291092	22,5	73	21,5	75	
19:30	311092	20,5	77	19,5	78,5	
19:50	051192	20	75	19	77	
19:10	081192	21	74,5	20	76,5	
11:15	141192	20	74,5	19	76,5	
23:00	161192	20	72,5	19	72,5	
21:00	231192	20	72,5	19	72,5	
23:05	251192	19	75	18	77	
22:00	301192	20	75	19	77	
08:35	051292	18	74	17	76	
07:25	071292	19	74,5	18	76,5	
17:20	121292	15,5	73,5	14,5	76	
14:00	151292	18	74,5	17	76,5	
23:35	181292	17	79	16	80	
21:10	201292	18	80	17	81	
19:45	241292	17,5	81,5	16,5	82	
19:20	271292	17	76,5	16	78	
18:40	281292	16	78,5	15	79,5	iO(H)281292
16:40	311292	15,5	72,5	14,5	72,5	
16:50	050193	15	77,5	14	79	

H. L.	FECHA	t°C (D)	HR% (D)	t°C (C)	HR% (C)	COMENTARIO
19:00	050193	13,5	78,5	12,5	79,5	
17:55	090193	17	74,5	16	76,5	
05:30	150193	16	78	15	79,5	
21:50	170193	16,5	77,5	15,5	79	
17:45	210193	17,5	71,5	16,5	68	
14:00	240193	19	71	18	65,5	
13:25	280193	17	74	16	76	
19:20	030293	17	74,5	16	76,5	
07:35	110293	16,5	78	15,5	79,5	
12:25	140293	20	74,5	19	76,5	
19:55	170293	17,5	75,5	16,5	77,5	
13:45	200293	21	70	20	61	
17:00	240293	17	69,5	16	58,5	
10:20	280293	15	78	14	79,5	
21:25	010393	13	78	12	79,5	
19:15	020393	12	79,5	11	80,5	
09:55	070393	17	76	16	78	
00:15	130393	18	75,5	17	77,5	
08:30	170393	18	80	17	81	
14:50	200393	23	68	22	51,5	
21:25	230393	21	76	20	78	
22:15	070493	21	74	20	76	
09:40	110493	20,5	76,5	19,5	78	
15:10	120493	22	70,5	21	63	
14:10	180493	22	70	21	61	
21:30	210493	22	73	21	75	
18:55	250493	21	70	20	61	
20:40	280493	21	71,5	20	68	
10:30	010593	19	77	18	78,5	
22:20	170593	25	66,5	24	44,5	
15:35	230593	25,5	69,5	24,5	58,5	
02:05	300593	27	68	26	51,5	
12:45	310593	28	67	27	46,5	

H. L.	FECHA	t°C (D)	HR% (D)	t°C (C)	HR% (C)	COMENTARIO
22:30	030693	26,5	69	25,5	56	
11:45	060693	27	67	26	46,5	
00:15	120693	27	65,5	26	40,5	
20:45	160693	28	66	27	42	fS(H)170690-36M
20:35	080698	27	69,5	26	58,5	
17:40	110500	25	72	24	70	
06:20	130500	24	73	23	75	
20:50	170500	27,5	69	26,5	56	
11:10	180500	27	69	26	56	
10:25	200500	23,5	73	22,5	75	
13:10	210500	23	74,5	22	76,5	
20:35	210500	23,5	74	22,5	76	
09:05	220500	23	74	22	76	
18:50	220500	23,5	74,5	22,5	76,5	
10:10	230500	23	75,5	22	77,5	fS(H)280390; fL(H)030991; fO(H)281292

9.8. Graduación del papel brillante Brovira-Speed® B 310 PE utilizado en la realización de positivos de electromicrografías

C.A.	C.G.	G.D.	G.C.	I.P.
BEW	0	extra-suave	mínimo	*
BW	1	suave	cuasi-mínimo	5,3
BS	2	especial	medio-bajo	14,4
BN	3	normal	medio-alto	12,0
BH	4	duro	cuasi-máximo	13,9
BEH	5	extra-duro	máximo	22,4

Legenda: C.A. = código alfabético, C.G. = código de grado, G.D. = grado de dureza, G.C. = grado de contraste, I.P. = índice predeterminado del fotómetro-temporizador Sixtolab®.

*No utilizado en el Laboratorio de Electromicrografía (SCT-UB) debido a su poco contraste.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
MORFOLOGÍA DE ERITROCITOS DE MAMÍFERO EN MANCHAS DE SANGRE: ESTUDIO SOBRE MATERIALES
LÍTICOS DE INTERÉS TECNOPREHISTÓRICO
Policarp Hortolà i Gómez
ISBN:978-84-691-1906-8/D.L: T-356-2008

10. ADDENDUM

10.1. La Ciencia

Como toda esfera de la actividad humana, la Ciencia (del lat. *scientia*, saber) posee un objeto, y un método para alcanzarlo. El objeto de la Ciencia es el conocimiento objetivo de la realidad (*conocimiento científico*), para alcanzar el cual se vale de un método propio (*método científico*). Para Bunge (1983), el conocimiento objetivo es "la experiencia intersubjetiva (transpersonal)", mientras que la realidad es "lo que existe en algún lugar del continuo espacio temporal de cuatro dimensiones".

Sierra Bravo (1988) define la Ciencia como "un conjunto sistemático de conocimientos sobre la realidad observable, obtenidos mediante el método científico". Para Bunge (1983), la Ciencia es "un estilo de pensamiento y acción", tendente a construir reproducciones conceptuales de las estructuras de los hechos (*teorías*), que serían conjuntos de modelos contingentes (parciales y no infalibles) de la realidad. Por su parte, Poincaré (1854-1912) había definido la Ciencia como "una clasificación, un modo de relacionar hechos que las apariencias separan, aunque estén ligados por algún parentesco natural y oculto" o, más resumidamente, "un sistema de relaciones" (Poincaré 1964).

Cada ciencia particular se caracteriza por tener un objeto material (aquello que estudia; p. ej. la sangre) y un objeto formal (aspecto desde el que lo estudia; p. ej. el aspecto histológico, genético, bioquímico, etc.); así, cada ciencia particular sería una disciplina que utiliza el método científico con la finalidad de hallar en su objeto material estructuras generales (*leyes*) referentes a su objeto formal. Siguiendo el modelo de las ciencias naturales, Eco (1982) considera que una investigación científica debe cumplir los cuatro requisitos siguientes:

1. Versar sobre un objeto -físico o intelectual- reconocible y definido de tal modo que también sea reconocible por los demás. Definir el objeto significa definir las condiciones bajo las cuales podemos hablar en base a unas reglas que nosotros mismos estableceremos o que otros han establecido antes que nosotros.
2. Decir sobre este objeto cosas que todavía no han sido dichas o bien revisar con óptica diferente las cosas que ya han sido dichas.
3. Ser útil a los demás. Es decir, añadir algo a lo que la comunidad ya sabía y que deberá ser tenido en cuenta por todos los trabajos futuros sobre el tema.
4. Suministrar elementos para la verificación y la refutación de las hipótesis que formula. Esto significa presentar pruebas e indicar cómo se ha procedido para hacer el hallazgo,

cómo habría que proceder para hacer otros y qué tipo de hallazgo refutaría la hipótesis formulada.

10.2. El conocimiento científico

El conocimiento es un proceso de relación entre un sujeto cognoscente (aquel que conoce), un objeto de conocimiento (aquello que se trata de conocer) y determinadas estructuras lógicas: el concepto (cuya forma lógica es el término), el juicio (cuya forma lógica es la proposición) y el razonamiento (cuya forma lógica es la inferencia). El conocimiento científico es el conocimiento objetivo que se obtiene mediante los procedimientos del método científico. El término "conocimiento objetivo" no implica conocimiento absoluto o permanente, sino el conocimiento actual más digno de confianza, cuyo contenido cambia a medida que la investigación científica avanza y cambia; así, una teoría que coincide con hechos ya conocidos es siempre adecuada para sugerir la existencia de hechos aún no observados ni sospechados y para promover su investigación (Ford 2000; Hull 1981).

En el proceso diacrónico de organización, en forma de teoría, de un conocimiento científico determinado, Laín Entralgo (1970) distingue cinco momentos:

1. El momento intuitivo o de realidad. Aquel en virtud del cual la teoría en cuestión expresa científicamente una experiencia directa del mundo real. Su temporeidad consiste en el paso de un "ahora" -el correspondiente a la percepción en que nace esa experiencia- a un "siempre" hipotético o condicional.
2. El momento conceptivo o de objetividad. Aquel por el cual la experiencia inmediata del mundo real y las creaciones intelectuales a ella subsiguientes se elevan a conceptos. Lo que era "objetual" se convierte así en "objetivo". Su temporeidad es el paso del "ahora" de la concepción a un "siempre" también hipotético o condicional.
3. El momento constructivo o de estructura. Aquel que otorga orden interno y figura a la teoría de que se trate. Su temporeidad es semejante a la anterior.
4. El momento interpretativo o de sentido. Aquel en que se manifiesta lo que la teoría significa, dentro del pensamiento de su creador, tanto para su persona singular como para el género humano, en cuanto aquella es declaración científica de una parcela de la realidad. Su temporeidad consiste en el paso del "ahora" del autor al "ahora" de quien más tarde descubre y comprende la interpretación.

5. El momento posesivo o de arraigo. Aquel que determina y mide la real implantación de la verdad de esa teoría en la personal existencia de quien la crea o la conoce. Su temporeidad propia es el paso del "ahora" de la posesión a un "siempre" absoluto que unas veces se juzgará posible y esperable y otras será tenido por imposible y absurdo.

El conocimiento científico se organiza mediante la inferencia. La inferencia es el paso de un conjunto de *proposiciones* a otro; el primer conjunto puede llamarse la clase de las *premisas*, y el segundo la clase de las *conclusiones* (Bunge 1983; Vélez Cantarell 1960). Para la Lógica Formal sólo puede admitirse un tipo de inferencia (inferencia deductiva); la Lógica Material admite dos tipos de inferencia (deductiva e incoada). El método científico depende de los dos tipos de inferencia de la Lógica Material: la deductiva o deducción, proceso que va de lo general a lo particular por medio del análisis (división del todo en sus partes) y la incoada o inducción, proceso inverso que va de lo particular a lo general por medio de síntesis (reunión del todo a partir de sus partes); combinando ambos tipos de inferencia, se pasa de la observación a la formulación de hipótesis (suposiciones), así como de la experimentación al establecimiento de tesis (postulados). En función de si se trata de una ciencia formal o experimental, en su aplicación del método científico predominará la deducción (Lógica, Matemáticas) o la inducción (Física, Química, Biología, Geología).

10.2.1. Inferencia deductiva

10.2.1.1. Generalidades

La inferencia deductiva (*silogismo*) consiste en derivar enunciados, no de la observación de la realidad, sino de otros enunciados previamente formados. La inferencia deductiva se caracteriza porque en ella las conclusiones se derivan necesariamente de las premisas, y está formada por tres enunciados o proposiciones: premisa mayor, premisa menor y conclusión. Una de las tres proposiciones puede omitirse -por sobreentenderse-, quedando un silogismo abreviado denominado *entimema* (Rivano 1964).

La inferencia deductiva es lógicamente válida y necesaria (las conclusiones se derivan necesariamente de las premisas). Entre los tipos más corrientes de inferencia deductiva están la sustitución (el cambio de variables), la separación (*modus ponens*) y la reyección (*modus tollens*), la ejemplificación y la generalización, además de gran número de esquemas de

inferencia específicos (no universales), como los que se usan en el cálculo aritmético. Cuando una inferencia deductiva válida parte de premisas que se consideran verdaderas o aceptadas por convención, la inferencia se llama una *demostración* (Bunge 1983).

Dado que el silogismo pretende ser concluyente, se han formulado un conjunto de reglas para garantizar su legitimidad (*reglas generales del silogismo*), que son las ocho siguientes (Rivano 1964):

1. Un silogismo tiene tres y sólo tres terminos. Esta regla resulta de la propia definición del silogismo.
2. El silogismo consta solamente de tres proposiciones.
3. El termino medio debe estar, una vez al menos, aplicado en toda su extensión (es decir, distribuido). Puesto que los extremos se relacionan entre si por la intervención del medio, no es necesaria ninguna conclusión cuando la relación de ambos extremos cae sobre una parte solamente del término medio. La parte del medio con que se relaciona un término puede no ser la misma con que se relaciona el otro, por lo cual no podemos concluir una relación entre ellos. Se exige, pues, la distribución del término medio.
4. Ningún término puede tener en la conclusión más extensión que en las premisas. Su trasgresión implicaría que hemos ido más allá de las premisas y que el silogismo no es válido por sí mismo; sería el caso de la inferencia incoada.
5. Nada se concluye de premisas negativas. En ellas o excluimos ambos extremos del medio, o el medio de ambos extremos, o un extremo del medio y el medio del otro extremo. Es fácil ver que no hay relación entre los extremos que pueda concluirse. Dicho de otra manera: las premisas negativas sólo establecen exclusiones; de lo cual no puede concluirse ni afirmativa ni negativamente.
6. Si una premisa es negativa la conclusión lo es asimismo. Porque un término está en relación de exclusión con el término medio; luego, no puede relacionarse de otra manera con el segundo. Esta regla, tiene recíproca, es decir: si la conclusión es negativa una premisa debe serlo.
7. De premisas particulares nada se infiere. La única premisa particular que distribuye un término es negativa. Este término distribuido debe ser el medio (regla 3.). La conclusión debe ser negativa (regla 6). Luego, el término mayor debe estar distribuido, lo que es imposible por hipótesis.

8. Si una premisa es particular la conclusión es también particular. Se prueba, también, mediante las reglas anteriores. Una premisa debe ser particular y la otra universal (regla 7). Si son ambas positivas sólo hay un término distribuido que debe ser el término medio (regla 3). Luego la conclusión es particular (regla 4). Si una es negativa y la otra positiva la conclusión debe ser negativa (regla 6); luego, el término mayor debe estar distribuido en la premisa. Además, debe estarlo el término medio (regla 3). Supongamos que la universal es negativa. La otra ha de ser particular afirmativa; luego, la conclusión debe ser particular (regla 4). Supongamos que la particular es negativa; también en este caso la conclusión es particular.

Existen tres tipos fundamentales de silogismo, para describir los cuales nos basaremos en Rivano (1964) y Vélez Cantarell (1960).

10.2.1.2. Tipos fundamentales de inferencia deductiva

10.2.1.2.1. Silogismo categórico

Es de la forma "todo/algún/ningún (tal) es/no es (cual)". Sus enunciados son simples (con un solo sujeto y predicado) y categóricos (es decir, afirmativos o negativos). Asimismo, el conjunto de sus enunciados está formado por tres términos: el sujeto (S) o término menor, el término medio (M) y el predicado (P) o término mayor. Las dos premisas deben contener M, y la conclusión solo S y P. Las premisas integran el *antecedente*, y la conclusión es el *consecuente*. Se denominan *figuras del silogismo categórico* las disposiciones que resultan del lugar ocupado por el término medio en las premisas: M-P/S-M, P-M/S-M, M-P/M-S, o P-M/M-S. Se denominan *modos del silogismo categórico* las disposiciones que resultan del alcance cuantitativo de las proposiciones: todo, una parte, o nada. Aunque matemáticamente el número de combinaciones de figuras y modos sea 64, solo 19 de estas combinaciones son legítimas, al no vulnerar las reglas generales del silogismo. Si nos ceñimos a la combinación de la primera figura (*sub-prae*) con su primer modo (*Barbara*), tenemos:

(premisa mayor)	Todo M es P
(premisa menor)	S es M
	—————
(conclusión)	Luego S es P

Ejemplo *ad hoc*: $M = \text{GRS}$, $S = \text{esta mancha}$, y $P = \text{sangre}$:

Todo GRS es sangre,
Esta mancha es de GRS,

Luego esta mancha es sangre.

10.2.1.2.2. Silogismo hipotético

Es de la forma "si (tal), entonces (cual)", es decir, con un enunciado condicional como premisa mayor. Una de las premisas es el *antecedente*, la otra el *condicional* y la conclusión el *consecuente*. Esta clase de razonamiento deductivo tiene una gran importancia en la Ciencia, porque es la que se usa para derivar consecuencias específicas de principios o hipótesis, que después se contrastan con la realidad. Puede adoptar dos formas válidas:

A. *Modus ponendo ponens*

Si p , entonces q
 p es

Luego q es

B. *Modus tollendo tollens*

Si p , entonces q
 q no es

Luego p no es

Ejemplos *ad hoc*: $p = \text{observar GRS}$, $q = \text{observar sangre}$:

Modus ponendo ponens

Si observamos GRS, entonces observamos sangre
Observamos GRS

Luego observamos sangre

Modus tollendo tollens

Si observamos GRS, entonces observamos sangre
No observamos sangre

Luego no observamos GRS

10.2.1.2.3. Silogismo disyuntivo

Es de la forma "o (tal) o (cual)" o bien "no (tal) y (cual) a la vez", es decir, con un enunciado disyuntivo como premisa mayor. Su forma en *modus tollendo ponens* es:

S es o p o q	S no es p y q a la vez
S no es p	S no es p
Luego S es q	Luego S es q

Ejemplos *ad hoc*: p = nucleado, q = mamífero, y S = este GRS:

Este GRS es o nucleado o de mamífero	Este GRS no es nucleado y de mamífero a la vez
Este GRS no es nucleado	Este GRS no es nucleado
Luego este GRS es de mamífero	Luego este GRS es de mamífero

10.2.2. Inferencia incoada

10.2.2.1. Generalidades

La inferencia incoada consiste en derivar enunciados, no de otros enunciados previamente formados, sino de la observación de la realidad. En la inferencia incoada, las conclusiones se derivan probablemente de las premisas; es decir, no tienen carácter necesario sino únicamente probable (*probabilidad lógica*), por lo que son lógicamente no válidas, pero sí plausibles. Aísa Moreu (1997), bajo el nombre de "razonamiento inductivo", la define como "un argumento *ampliativo*, aquel cuya conclusión *va más allá de las premisas*, cuya conclusión, por tanto, no se deduce lógicamente de ellas" y que "puede ir del pasado al futuro, de lo particular a lo general, de lo particular a lo particular, etc."; en nuestro caso podríamos añadir que también puede ir del presente al pasado, como acontece en la Actuopaleontología o la Medicina Forense Criminalística y que se halla subyacente en el Principio del Actualismo de Lyell ("el presente es la clave del pasado") y en el Principio de Intercambio de Locard ("todo contacto deja huellas").

Aunque la Lógica Formal no la admita dentro del razonamiento, la inferencia incoada es aplicada frecuentemente en la investigación científica, siendo el objeto formal de la Lógica Inductiva (Bunge 1983). Existen dos tendencias principales en Lógica Inductiva: la *probabilística* o de la inducción enumerativa pascaliana (p. ej., Carnap 1950), cuya sintaxis se

ajusta al cálculo de la probabilidad matemática, y la *neoclásica* o de la inducción eliminativa baconiana (p. ej., Cohen 1977), cuya sintaxis se ajusta al cálculo de la probabilidad lógica.

Según Bunge (1983), el papel de la inferencia incoada en la Ciencia es el siguiente:

1. Se presenta en la formulación de proposiciones de nivel bajo, tanto en el conocimiento ordinario cuanto en la ciencia.
2. Da a veces lugar a la conjetura de hipótesis de nivel alto.
3. Especialmente junto con las formas de inferencia deductiva, se presenta en las inferencias practicadas para contrastar hipótesis y teorías.

Existen diez tipos fundamentales de inferencia incoada, para describir los cuales nos basaremos en Bunge (1983).

10.2.2.2. Tipos fundamentales de inferencia incoada

10.2.2.2.1. Analogía sustantiva

Es la semejanza de componentes:

$$\begin{array}{l} a \text{ es } P_1, P_2, \dots, P_n \\ b \text{ es } P_1, P_2, \dots, P_{n-1} \end{array}$$

Luego es probable que b sea P_n

Ejemplo *ad hoc*: a = preservación de GRS sobre sílex, b = preservación de GRS sobre caliza, y $P_1 = 1$ año, $P_2 = 4$ años, $P_{n-1} = 7$ años, $P_n = 10$ años:

Hubo preservación de GRS sobre sílex tras 1 año, 4 años, 7 años y 10 años,
Hubo preservación de GRS sobre caliza tras 1 año, 4 años y 7 años,

Luego es probable que haya también preservación de GRS sobre caliza tras 10 años.

10.2.2.2.2. Analogía estructural

Es la semejanza de forma:

$$\begin{array}{l} a \text{ es } P_1, P_2, \dots, P_{n-1} \\ b \text{ es } P_1, P_2, \dots, P_{n-1} \end{array}$$

Luego es probable que a y que b sean también P_n

Ejemplo *ad hoc*: a = GRS del cerdo, b = GRS del pécarí, y P_1 = bicóncavo, P_2 = circular, P_{n-1} = 6,0 μm de diámetro medio, P_n = VSG:

Los GRS del cerdo son bicóncavos, circulares y de 6,0 μm de diámetro medio,
Los GRS del pécarí son bicóncavos, circulares y de 6,0 μm de diámetro medio,

Luego es probable que los GRS del pécarí y del cerdo tengan también la misma VSG.

10.2.2.2.3. Inducción de primer grado

Es la que va de los ejemplos a una generalización de nivel bajo:

a_1, a_2, \dots, a_{n-1} es P
 b es a_n

Luego es probable que b sea también P

Ejemplo *ad hoc*: a_1 = mancha de sangre sobre sílex, a_2 = mancha de sangre sobre obsidiana, a_{n-1} = mancha de sangre sobre caliza, a_n = mancha de sangre sobre grauvaca, b = muestra, P = preservación de GRS:

Las manchas de sangre sobre sílex, obsidiana y caliza mostraron preservación de GRS,
Esta muestra es una mancha de sangre sobre grauvaca,

Luego es probable que esta muestra también muestre preservación de GRS.

10.2.2.2.4. Inducción de segundo grado

Es la que va de generalizaciones de nivel bajo a generalizaciones de nivel más alto:

a_1, a_2, \dots, a_n es P
 a_1, a_2, \dots, a_n es Q

Luego es probable que todo Q sea P

Ejemplo *ad hoc*: a_1 = hombre, a_2 = pécarí, a_n = gacela, P = preservación de GRS en manchas de sangre, Q = mamífero:

Hombre, pécarí y gacela mostraron preservación de GRS en manchas de sangre,
Hombre, pécarí y gacela son mamíferos,

Luego es probable que todo mamífero muestre preservación de GRS en manchas de sangre.

10.2.2.2.5. Generalización estadística

Es la inferencia de la muestra a la población:

La frecuencia relativa observada de P en una muestra a de la población A es f
 a es una muestra al azar de la población A

Luego la frecuencia relativa esperada de P en la población A es aproximadamente f

Ejemplo *ad hoc*: a = cien primeras herramientas líticas recuperadas en la excavación = 100, A = total de herramientas líticas recuperadas en la excavación = 2000, f = herramientas del conjunto a manchadas de sangre/ a = $5/100 = 0,05 = 5\%$, P = herramienta manchada de sangre:

La frecuencia relativa observada de herramientas manchadas de sangre en la muestra de las cien primeras herramientas del total de 2000 es 5%,
Las cien primeras herramientas líticas recuperadas en la excavación es una muestra al azar de la población total de 2000,

Luego la frecuencia relativa esperada de herramientas manchadas de sangre del total de 2000 es aproximadamente 5%.

10.2.2.2.6. Especificación estadística

Es la inferencia de la población a la muestra:

La frecuencia relativa observada de P en la población A es f
 a es una muestra al azar de la población A

Luego la frecuencia relativa esperada de P en a es aproximadamente f

Ejemplo *ad hoc*: a = doscientas últimas herramientas líticas recuperadas en la excavación = 200, A = total de herramientas líticas recuperadas en la excavación = 2000, f = total de herramientas manchadas de sangre/ A = $100/2000 = 0,05 = 5\%$, P = herramienta manchada de sangre:

La frecuencia relativa observada de herramientas manchadas de sangre en la población total de 2000 es 5%,
Las doscientas últimas herramientas líticas recuperadas en la excavación es una muestra al azar de la población total de 2000,

Luego la frecuencia relativa esperada de herramientas manchadas de sangre en las doscientas últimas herramientas es aproximadamente 5%.

10.2.2.2.7. Modus Ponens débil

Es la separación débil del consecuente en base a una afirmación débil del condicional y/o el antecedente:

<i>Esquema 7a</i>	<i>Esquema 7b</i>	<i>Esquema 7c</i>
Si p , entonces q p es verosímil	"Si p , entonces q " es verosímil p es	"Si p , entonces q " es verosímil p es verosímil
<hr/>	<hr/>	<hr/>
q es verosímil	q es verosímil	q es verosímil
Ejemplos <i>ad hoc</i> :		

Esquema 7a: p = observar GRS, q = observar sangre:

Si observamos GRS, entonces observamos sangre
Es verosímil que estemos observando GRS

Luego es verosímil que estemos observando sangre

Esquema 7b: p = observar una mancha de sangre, q = observar GRS preservados:

Es verosímil que si observamos una mancha de sangre, entonces observemos GRS preservados,
Estamos observando una mancha de sangre,

Luego es verosímil que observemos GRS preservados.

Esquema 7c: p = observar una mancha de sangre, q = observar GRS preservados:

Es verosímil que si observamos una mancha de sangre, entonces observemos GRS preservados,
Es verosímil que estemos observando una mancha de sangre,

Luego es verosímil que observemos GRS preservados.

10.2.2.2.8. Modus Tollens débil

Es la recusación débil del antecedente en base a afirmación fuerte o débil del condicional y negación débil o fuerte del consecuente:

<i>Esquema 8a</i>	<i>Esquema 8b</i>	<i>Esquema 8c</i>
Si p , entonces q no q es verosímil	"Si p , entonces q " es verosímil no q	"Si p , entonces q " es verosímil no q es verosímil
<hr/>	<hr/>	<hr/>
no p es verosímil	no p es verosímil	no p es verosímil

Ejemplos *ad hoc*

Esquema 8a: p = observar GRS, q = observar sangre:

Si observamos GRS, entonces observamos sangre
Es verosímil que no estemos observando sangre

Luego es verosímil que no estemos observando GRS

Esquema 8b: p = observar una mancha de sangre, q = observar GRS preservados:

Es verosímil que si observamos una mancha de sangre, entonces observemos GRS preservados,
No observamos GRS preservados,

Luego es verosímil que no estemos observando una mancha de sangre.

Esquema 8c: p = observar una mancha de sangre, q = observar GRS preservados:

Es verosímil que si observamos una mancha de sangre, entonces observemos GRS preservados,
Es verosímil que no estemos observando GRS preservados,

Luego es verosímil que observemos una mancha de sangre.

10.2.2.2.9. Reducción fuerte

Es la afirmación débil del antecedente en base a afirmación del consecuente:

$$\frac{\text{Si } p, \text{ entonces } q}{q} \\ p \text{ es verosímil}$$

Ejemplo *ad hoc:* p = observar GRS, q = observar sangre:

Si observamos GRS, entonces observamos sangre
Observamos sangre

Luego es verosímil que observemos GRS

10.2.2.2.10. Reducción débil

Es la afirmación débil de antecedente en base a afirmación del consecuente y afirmación fuerte o débil del condicional:

<i>Esquema 10a</i>	<i>Esquema 10b</i>	<i>Esquema 10c</i>
Si p entonces q q es verosímil	"Si p , entonces q " es verosímil q	"Si p , entonces q " es verosímil q es verosímil
<hr/>	<hr/>	<hr/>
p es verosímil	p es verosímil	p es verosímil

Ejemplos *ad hoc*

Esquema 10a: p = observar GRS, q = observar sangre:

Si observamos GRS, entonces observamos sangre
Es verosímil que estemos observando sangre

Luego es verosímil que estemos observando GRS

Esquema 10b: p = presentar restos de sangre una herramienta lítica, q = presentar huellas de uso una herramienta lítica:

Es verosímil que si una herramienta lítica presenta restos de sangre, entonces presente huellas de uso,
Esta herramienta lítica presenta huellas de uso,

Luego es verosímil que esta herramienta lítica presente restos de sangre.

Esquema 10c: p = presentar restos de sangre una herramienta lítica, q = presentar huellas de uso una herramienta lítica:

Es verosímil que si una herramienta lítica presenta restos de sangre, entonces presente huellas de uso,
Es verosímil que esta herramienta lítica presente huellas de uso,

Luego es verosímil que esta herramienta lítica presente restos de sangre.

10.3. El método científico

El método científico es el procedimiento para situar el conocimiento dentro de un esquema lógico, por lo que es estudiado por el subcampo de la Lógica Material denominado Metodología (Ford 2000; Vélez Cantarell 1960). El postulado básico del método científico es el Principio de Objetividad de la Naturaleza, que niega la validez de toda interpretación de los fenómenos dada en términos de causas finales ("proyecto") (Monod 1981).

Podemos modelizar el método científico en las ciencias experimentales como una secuencia de cuatro etapas, donde, en un proceso de flujo positivo de retroalimentación

(*feedback*), cada una ellas es consecuencia de la inmediatamente anterior o bien de cualquiera de las posteriores, debiendo conducir a la inmediatamente posterior o bien a cualquiera de las anteriores (Fig. 15).

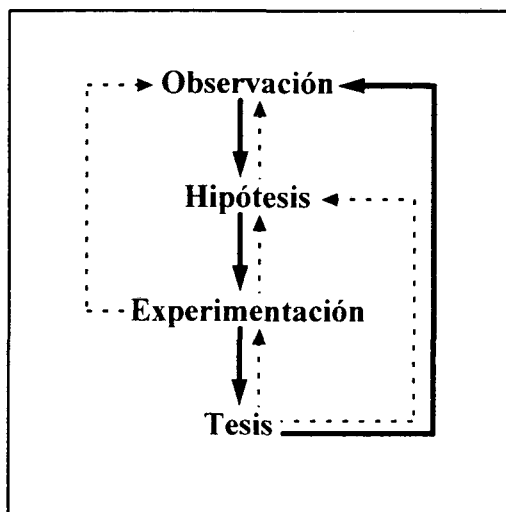


Figura 15. Modelo y diagrama de flujo del método científico en las ciencias experimentales.

Basándonos en Bunge (1983), podemos describir las cuatro etapas del método científico en las ciencias experimentales del siguiente modo:

1. Observación. Puede ser una observación cualitativa o cuantitativa, propia o procedente de la literatura científica. Al principio se trata de reconocer los elementos que puedan ser pertinentes o relevantes, a través del examen y de la clasificación preliminar de los hechos disponibles. De ahí se pasa al descubrimiento del problema. A veces, tal problema surge de la identificación de una incoherencia en el cuerpo de conocimientos de una disciplina, de una falla en alguna teoría admitida; con mucha mayor frecuencia, el problema es simplemente la ubicación de una laguna que se tratará de llenar partiendo de las teorías disponibles. Por fin, se trata de delimitar la cuestión, formulándola de modo que el problema quede planteado en términos que puedan hacerlo verificable.

2. Hipótesis. Es la proposición que se toma como explicación provisional de un fenómeno, es decir, una suposición. Una vez planteada la hipótesis, es preciso deducir sus consecuencias particulares comprobables. Algunas de ellas pueden haber sido ya comprobadas en el campo científico de que se trata, o en campos próximos. Otras, tomarán la forma de *predicciones* que, partiendo del modelo teórico y envolviendo datos empíricos, se someterán a la prueba según las técnicas de verificación existentes o según otras nuevas

que se propongan. La hipótesis puede llevar subordinadas otras hipótesis, y también preguntas. Ejemplo *ad hoc*: aceptando secuencialmente las hipótesis "El hombre prehistórico manufacturaba herramientas" y "Las herramientas que manufacturaba el hombre prehistórico podían ser de material lítico", se puede plantear la pregunta "Qué materiales líticos utilizaba el hombre prehistórico para manufacturar herramientas?". Para Popper (1968), las hipótesis no son verificables porque no es posible su comprobación en todos los casos, sino simplemente refutables (falsables) puesto que se puede demostrar que no se ajustan a todos los casos; es decir, que el criterio válido no es el de verificabilidad, sino el de refutabilidad (*falsification*).

3. Experimentación. El observador prepara de manera activa unas circunstancias para producir un determinado fenómeno cuantitativo (directamente cuantificable) o cualitativo (indirectamente cuantificable). El investigador científico tiene que planear cómo someterá las predicciones hechas a partir de las hipótesis a verificaciones mediante experimentos, observaciones, mediciones, etc.; seguidamente realizará las operaciones programadas, recolectando en esta fase una serie de datos empíricos que serán criticados, evaluados, clasificados, analizados, procesados y finalmente interpretados a la luz del modelo teórico planteado anteriormente.

4. Tesis. Es la proposición consecuencia de aplicar el razonamiento lógico a los resultados de la experimentación, es decir, la hipótesis contrastada experimentalmente. El investigador tratará de comparar los resultados de la prueba con las consecuencias que había deducido de sus hipótesis, considerando entonces si éstas resultaron confirmadas o refutadas, en su totalidad o en parte. Una vez la experimentación ha verificado o refutado las hipótesis trazadas ante la observación de los hechos, las conclusiones pasan a convertirse en tesis. Un conjunto de tesis sobre un hecho puede dar lugar a modelos y teorías que lo expliquen y a leyes que permitan predecir resultados (*predictibilidad*). Para Kuhn (1970), una tesis no puede refutarse hasta que no se dispone de otra tesis alternativa, que pueda ocupar su lugar.

10.4. Referencias

Aisa Moreu, D.

1997 *El Razonamiento Inductivo en la Ciencia y en la Prueba Judicial.*
Zaragoza: Prensas Universitarias de Zaragoza.

Bunge, M.

1983 *La Investigación Científica. Su estrategia y su filosofía.* 2ª edición
corregida. Traducción de M. Sacristán. Barcelona: Ariel.

Carnap, R.

1950 *Logical Foundations of Probability.* Chicago: The University of
Chicago Press.

Cohen, L. J.

1977 *The Probable and the Provable.* Oxford: Clarendon Press.

Eco, U.

1982 *Cómo se hace una tesis. Técnicas y procedimientos de estudio,*
investigación y escritura. 4ª edición. Traducción de L. Baranda y A.
Clavería. Barcelona: Gedisa.

Ford, E. D.

2000 *Scientific Method for Ecological Research.* Cambridge [etc.]:
Cambridge University Press.

Hull, L. W. H.

1981 *Historia y Filosofía de la Ciencia.* 5ª edición. Traducción de M.
Sacristán. Barcelona-Caracas-México: Ariel.

Kuhn, T. S.

1970 *The Structure of Scientific Revolutions.* 2nd. edition. Chicago: The
University of Chicago Press.

Lain Entralgo, P.

1970 *Ciencia y Vida*. Madrid: Seminarios y Ediciones.

Monod, J.

1981 *El Azar y la Necesidad. Ensayo sobre la filosofía natural de la biología moderna*. Traducción de F. Ferrer, revisada por A. Cortés. Barcelona: Turquets.

Poincaré, J. H.

1964 *El Valor de la Ciencia*. 3ª edición. Traducción, prólogo y notas de A. B. Besio y J. Banfi. Madrid: Espasa-Calpe.

Popper, K. R.

1968 *The Logic of Scientific Discovery*. 2nd. edition. New York [etc.]: Harper & Row.

Rivano, J.

1964 *Curso de Lógica. Moderna y antigua*. Santiago de Chile: Editorial Universitaria.

Sierra Bravo, R.

1988 *Tesis Doctorales y Trabajos de Investigación Científica. Metodología general de su elaboración y documentación*. 2ª edición. Madrid: Paraninfo.

Vélez Cantarell, J. M.

1960 *Fundamentos de Filosofía*. In Alcobé, S. et alii, Directores: *Enciclopedia Labor*. Tomo 9: La sociedad. El pensamiento. Dios. Barcelona [etc.]: Labor, 533-611.

·ESTA·TESIS·DOCTORAL·SE·TERMINÓ·
·DE·REDACTAR·
·EL·DÍA·11·DE·MAYO·DE·2001·

