

27.27

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



**DETERMINACION DE GRUPOS SANGUINEOS EN
MANCHAS DE ESPERMA**

TESIS MANCOMUNADA
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A N
JOSE LUIS CONTRERAS HERNANDEZ
MARIA DE LOS ANGELES CRUZ LEU



**EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA**

México, D. F.

1987



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

- I N D I C E -

	<u>PAGINA</u>
I. OBJETIVO	2
II. INTRODUCCION	3
III. GENERALIDADES	12
IV. PARTE EXPERIMENTAL	22
V. RESULTADOS Y DISCUSION	28
VI. CONCLUSIONES	43
VII. BIBLIOGRAFIA	45

OBJETIVO

1.- OBJETIVO

Debido a la incidencia cada día mayor de violaciones, intento de estupro y crímenes asociados con irregularidades sexuales es de gran importancia para la ciencia forense el análisis del grupo sanguíneo ABO(H) en manchas de esperma.

En conjunción con otras evidencias, esta determinación sería de gran utilidad para el esclarecimiento de un acto delictivo. Cada delito involucra cierto tipo de evidencias que son la clave en el proceso de la investigación y muchas veces indica la inocencia o culpabilidad en un caso determinado.

En esta tesis, se buscará un método sensible para determinar antígenos solubles del sistema sanguíneo ABO(H) en manchas de esperma, ya sea en tela o papel.

INTRODUCCION

II.- INTRODUCCION

La especificidad A, B y H está dada por polisacáridos, mucoproteínas, etc. No son antígenos que estén confinados sólo a los eritrocitos, se localizan en casi todas las células de los tejidos; aunque todos los individuos tienen sus propios antígenos hísticos.

Los polisacáridos que determinan la especificidad ABO(H) sobre los eritrocitos, son secretados también en forma hidrosoluble en los líquidos corporales del 80% de las personas de raza blanca. Todos los líquidos corporales, exceptuando el líquido cefalorraquídeo, contienen antígenos. (16)

Aproximadamente el 20% de una población determinada carece de sustancias solubles en los líquidos corporales. Por lo tanto, la población se divide en secretoras y no-secretoras. (15)

El gen "Se" determina la capacidad de secretar sustancias ABO(H); éste es un gen dominante, su alelomorfo recesivo es "se". (15) (19)

Los genotipos posibles son:

Se Se	}	secretoras de sustancias ABO(H)
Se se		
se se	}	no secretor

En la estructura y formación de los antígenos, los del grupo sanguíneo ABO(H) se forman a partir de una sustancia precursora que está compuesta químicamente por 15 aminoácidos y 4 azúcares: N-acetil galactosamina, D-galactosa, N-acetil glucosamina y otra molécula de D-galactosa sobre ésta actúa el gen "H" adicionando una molécula de L-fucosa, transformándose en la sustancia "H". (32) (34)

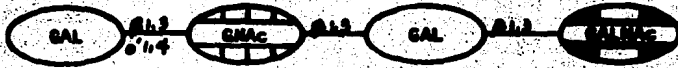
Para la formación de la sustancia "A", se adiciona una molécula de N-acetil galactosamina, la cual cambia la actividad de la sustancia "H"; lo mismo sucede para la formación de la sustancia "B", sólo que en este antígeno se añade una molécula de D-galactosa, como se muestra en la Figura A. (32) (34)

Los secretores del grupo "A" liberan antígenos "A" y "H" en sus líquidos y en forma semejante los secretores del grupo "B", tienen antígenos "B" y "H", los líquidos del grupo "AB" contienen "A" y "B", pero sólo pequeñas cantidades del antígeno "H", los individuos del grupo "O" sólo secretan el antígeno "H". (32) (34)

La importancia primordial de este estudio radica en la presencia de los antígenos A, B y O(H) en el líquido espermático.

FIGURA "A"

Sustancia precursora.



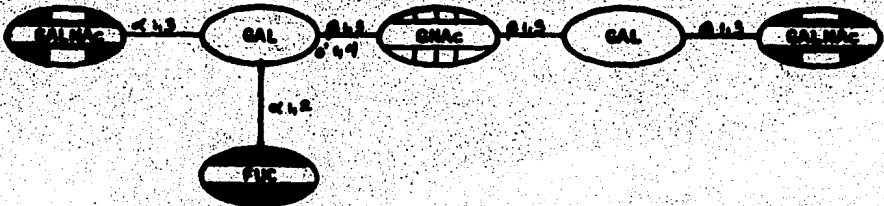
Sustancia "W"

Existe acción del gen H sobre la sustancia precursora y la adición de una molécula de L-Fucosa, convirtiéndose en sustancia precursora "W".

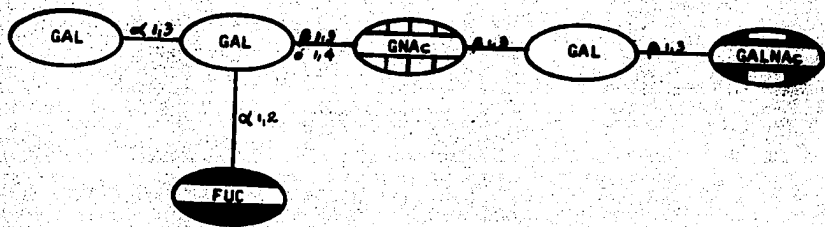


Sustancia "A"

Existe adición de una molécula de N-acetil galactosamina; cambiando totalmente la actividad de la sustancia "W".



Sustancia "B". Existe adición de una molécula de D-galactosa y cambia por completo la actividad de la sustancia "H".



Símbolos:

GAL	=	D-Galactosa
FUC	=	L-Fucosa
GNAC	=	N-acetil glucosamina
GALNAC	=	N-acetil galactosamina

El semen o líquido seminal es una mezcla de espermatozoides y de secreciones de las vesículas seminales, la próstata, las glándulas de Cowper y de Littré. (17) (18)

El semen, tal y como es eyaculado, es un líquido viscoso constituido por zoospermas suspendidos en el plasma seminal, que en contacto con el medio externo, al momento de ser eyaculado, coagula transformándose en una masa gelatinosa, verdadero gel, el cual se desintegra después de 15 a 30 minutos, produciéndose la llamada licuefacción del semen. (17).

El volumen promedio de eyacuación del semen es de 3-4 ml y el número promedio de espermatozoides eyaculados es de 400 millones. Es de color blanco amarillento. Su aspecto es traslúcido u opalescente, su olor es sui generis y por tanto característico. Su pH fluctúa entre 7.35 a 7.7 (18). Una vez eyaculado, el espermatozoide tiene una expectativa de vida de 24 a 72 horas.

La secreción prostática le da al semen la apariencia lechosa. Los líquidos de las vesículas seminales y las glándulas de Cowper, le dan la consistencia mucóide. (18)

Estudios de inmunofluorescencia han demostrado que se encuentran una cantidad mayor de antígenos en el acrosoma del espermatozoide. Debido a que sólo está presente en el espermatozoide maduro; otros antígenos se han encontrado en la cabeza, la cola y la punta de la cola. (19) - (20) (Figura No. 1).

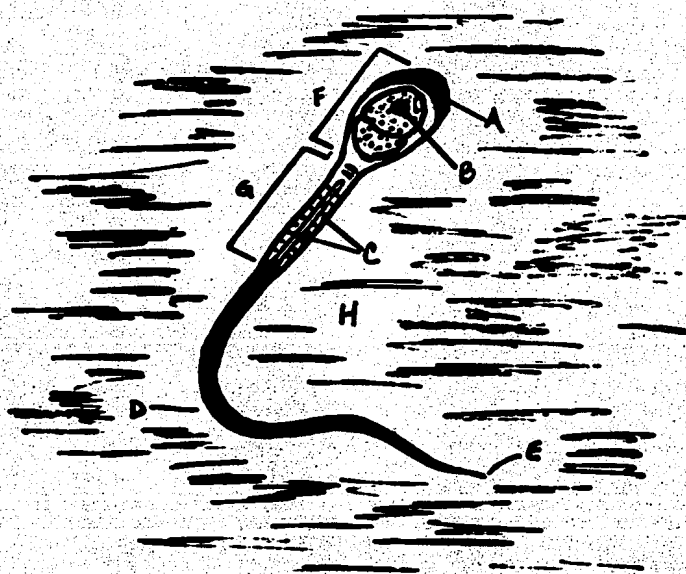


Figura No. 1

PARTES DE UN ESPERMATOZOIDE MADURO NORMAL
A (Acrosoma), B (Núcleo), C (Mitocondrias),
D (Cola), E (Punta de la cola), F (Cabeza),
G (Pieza intermedia) y H (Plasma seminal).

Los espermatozoides tienen la tendencia de captar antígenos del líquido seminal, de manera que algunas de las reacciones inmunológicas son determinadas por los antígenos que recubren el espermatozoide. Los antígenos A, B y H del grupo sanguíneo ABO(H) también pueden ser adquiridos a partir del líquido seminal. (15)

En la identificación de manchas de esperma se concibe la importancia - desde el punto de vista judicial, por el problema que representan en - los casos de atentados a las costumbres. (23)

Sobre los tejidos absorbentes el esperma deja manchas grises de contornos netos y regulares que acartonan la tela. Sobre los tegumentos, objetos y tejidos no absorbentes, forman al desecarse, películas, escamas o trazos brillantes. (23)

Una prueba de identificación de la mancha de esperma, es la utilización de rayos ultravioleta filtrados, conocida como la luz de Wood, que excitan la fluorescencia del esperma, adquiriendo una coloración blanco-azulada muy apreciable en cámara oscura; esta fluorescencia, debida a la espermina, se vuelve más intensa y amarillenta en las manchas antiguas. Esta propiedad no es específica, pues ciertos líquidos desecados (orina, moco nasal o vaginal) tienen fluorescencia idéntica o parecida. (23)

Debido al problema que presentan, se utilizan otras pruebas presuntivas como la de "Berberio, Florence y Nierdland". (23)

Una prueba de certeza es descubrir in situ la presencia de espermatozoides teñidos con azul de metileno. Al realizarse una determinación individual de las propiedades del grupo sanguíneo ABO(H) en el espermatozoides y en una mancha de líquido espermático se encuentran las mismas características de grupo que en sangre del individuo. (23)

Y es de aquí de donde se toma la pauta para la identificación de los grupos sanguíneos ABO(H) en manchas de espermatozoides; ya que las pruebas que se utilizan se basan en aspectos inmunológicos, siendo de gran importancia para la ciencia forense, porque en toda reacción antígeno-anticuerpo (Ag-Ac), el antígeno reacciona sólo con su anticuerpo correspondiente, que es específico para cada antígeno.

La técnica de inhibición de hemaglutinación utilizada para la determinación del grupo sanguíneo ABO(H) en manchas de espermatozoides en el presente trabajo, se basa en la Reacción Ag-Ac y es descrita en la Figura "B".

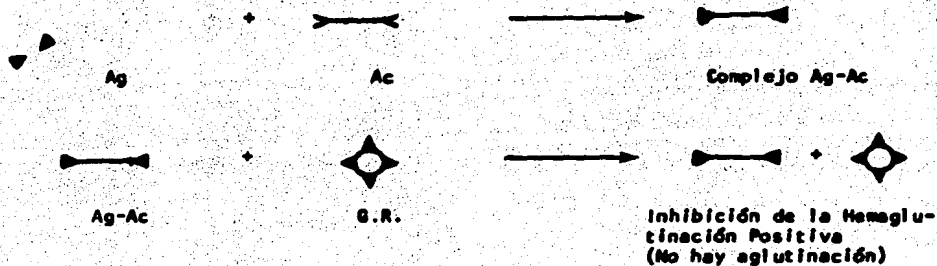
La Reacción antígeno-anticuerpo ocurre en dos etapas:

1.- El sitio de combinación del anticuerpo encuentra a su determinante antigénico correspondiente y se forman enlaces entre ambos, formándose el complejo antígeno-anticuerpo (Ag-Ac).

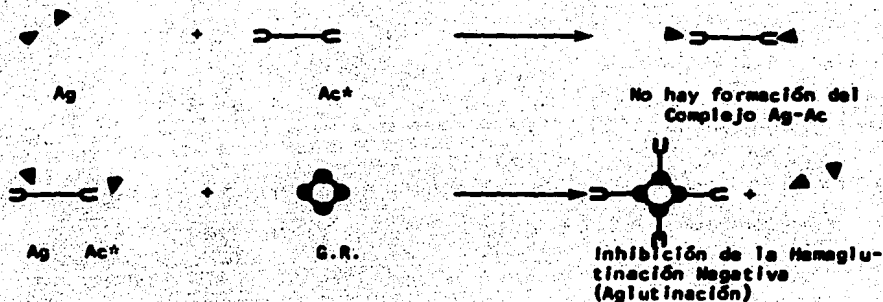
2.- El complejo Ag-Ac formado en la primera etapa se pone en contacto con una suspensión de glóbulos rojos observándose la inhibición de hemaglutinación.

FIGURA "B"

- REACCION DE INHIBICION DE HEMAGLUTINACION POSITIVA -



- REACCION DE INHIBICION DE HEMAGLUTINACION NEGATIVA -



SÍMBOLOS:

- Ag = antígeno
- Ac = anticuerpo
- G.R. = glóbulos rojos (sistema revelador)
- Ag-Ac = complejo antígeno-anticuerpo
- Ac* = anticuerpo no correspondiente al antígeno

GENERALIDADES

III.- GENERALIDADES

La utilización de la tipificación genética en el análisis de fluidos corporales y secreciones, es muy importante para la ciencia forense, debido a que los marcadores genéticos no sólo se encuentran en sangre, sino en fluidos de interés, como: saliva, sudor, semen, jugo gástrico, etc. (1)

Básicamente los marcadores genéticos del semen pueden ser clasificados dentro de dos categorías: a) Proteínas y enzimas, y b) Antígenos de superficie celulares. Estas categorías reflejan la naturaleza química de los marcadores y los métodos utilizados para su detección. (1)

La variación genética de proteínas y enzimas es usualmente detectada por métodos electroforéticos. Las proteínas extracelulares, intracelulares y las enzimas están incluidas en esta categoría. (1)

Los antígenos de superficie celular son detectados por procedimientos inmunológicos, usualmente reacciones de aglutinación y algunas variaciones de éstas. Los antígenos ABO(H) presentes en las sustancias de secretores han sido tradicionalmente considerados antígenos de superficie celular. (1)

En 1926, Landsteiner y Levine (1) (2) (4) (5) (7), demostraron la presencia de antígenos de grupo sanguíneo A y B en espermatozoides de humanos utilizando una técnica de inhibición de hemaglutinación.

La presencia de antígenos A y B secretados en plasma seminal, fue establecida por Yamakami y Shirai en 1926 (1) (7) (31), demostrando la uti

lidad potencial en investigaciones Médico-Legales, porque la existencia de estos antígenos podía ser detectada por métodos de inhibición de h aglutinación en extractos salinos de células de semen hasta cuatro m ses después de obtenidas. La posibilidad de que la expresión ABO(H) - pudiera ser relacionada con el estado secretor, no fue reconocida en ese tiempo.

En algunos reportes fue aceptado que la expresión de los antígenos - ABO(H) están presentes en esperma de secretores, pero no en el esperma de no-secretores.

Estudios realizados por Hartman en 1941, (3) indicaban que los antígenos presentes en el plasma seminal son idénticos a los antígenos del sistema ABO(H) contenidos en saliva.

En una serie de artículos publicados por Weil y colaboradores en 1956, (6) (12) (14) (31), describen el parentesco antigénico entre el esperma y el plasma seminal humano, demostrando que son inmunológicamente - indistinguibles cuando se prueban antisueros contra ambos materiales. Comprobaron que el antígeno responsable de este fenómeno se origina en la vesícula seminal y fue tomado por el espermatozoide durante su continuo pasaje por este anexo del tracto genital.

Bandhaver demostró que no solamente la vesícula seminal sino también - el epididimo contribuye a la propiedad antigénica del espermatozoide. Adelantando así la teoría de que los antígenos presentes en el esperma tozoide son adsorbidos del plasma seminal.

En ese mismo año Coombs, Marks, Bedford y Rouillard, (2) (7) (8) (11),

desarrollaron las reacciones de aglutinación mixta y antiglobulina mixta, con el firme propósito de estudiar isoantígenos de grupo sanguíneo del sistema ABO(H) sobre tejidos celulares, demostrando los antígenos A, B y O(H) en tejidos epidermales, anteriormente habían aplicado el principio de aglutinación mixta para confirmar la presencia de antígenos A y B en plaquetas.

Estas aportaciones son de gran interés para la Medicina forense en la identificación de grupos sanguíneos del sistema ABO(H) de una pieza de piel aislada, completamente desprovista de sangre. (11)

Utilizando esta técnica, diferentes investigadores encontraron antígenos A y B en células amnióticas fetales. (8)

No fue hasta 1957, cuando Gullbring reportó que antígenos del sistema ABO y D(Rho) también podían ser detectados por aglutinación mixta. (1) (2) (3) (4) (5) (6) (7) (10) Gullbring sostenía que la segregación de antígenos A y B en el espermatozoide de individuos de grupo sanguíneo AB se encontraba en espermatozoides separados. Sin embargo, una deficiencia de su reporte, fue el no describir la técnica detalladamente.

El estudio del antígeno D(Rho) sobre espermatozoides fue extendido por Majsky y Hrabě (1960), (2), utilizando reacciones de aglutinación mixta, absorción y elución.

Majsky y Zikova (10), durante estudios realizados sobre trombocitosis demostraron la presencia de antígenos del sistema MN y D(Rho), por métodos de absorción-elución y aglutinación mixta.

Levine y Celano (1961), (2) (3) (4), reportaron la detección de antígeno

nos sanguíneos A y B en espermatozoides de secretores y de no secretores por métodos de absorción-elución, pero fracasaron en la investigación del antígeno D(Rho).

La conclusión de Gullbring es confirmada por Popivanov y Vulchanov -- (1962), (1) (3) (4), quienes utilizando una técnica de aglutinación -- con suero anti-A espermatoaglutinante reportaron la aglutinación de espermatozoides con antígeno A en semen de un individuo AB dejando libre los espermatozoides con antígeno B no aglutinados. Y por Shahani-Southman: (3) (4) (5), en el mismo año, los cuales determinaron la presencia de antígenos de grupo sanguíneo A y B en espermatozoides humanos con -- antisueros inmunofluorescentes específicos del sistema ABO(H) en su superficie.

Lodge y Usher (1962), (9), estudiaron las sustancias de grupo sanguíneo de los sistemas ABO(H) y Lewis, en saliva y semen, demostrando su presencia en estos dos fluidos por una técnica de inhibición de hemaglutinación. Observando, que se encontraban tanto en saliva como en semen de un donador secretor.

Fue en 1964 cuando Edwards, Ferguson y Coombs (2) (3) (4), reportaron que solamente espermatozoides de individuos secretores participaban en la aglutinación mixta ABO(H). Concluyendo que los antígenos del espermatozoide seminal son derivados del plasma seminal y por consiguiente, los antígenos sanguíneos ABO(H) son dependientes del estado secretor -- del donador.

Boettcher (1967), (1) (3) (4), confirma las conclusiones de Edwards y

colaboradores; por experimentos en los cuales el esperma de un no secretor mostró la capacidad de adsorber antígenos sanguíneos ABO(H) después de la incubación en plasma seminal de un secretor. Además confirmó que sólo es posible determinar antígenos ABO(H) sobre espermatozoides de donadores secretores.

Investigaciones realizadas por Quinlivan, Heckman y Philip (1969), (12) (14), demostraron que algunos antígenos del plasma seminal humano son idénticos a los contenidos en tejidos humanos sanos obtenidos por autopsia (antes de 24 horas de fallecidos los donadores) como bazo, páncreas, corazón, hígado y cerebro; utilizando técnicas de inmunoelectroforesis y doble difusión de Ouchterlony. Pereira y Marchant (1969) -- (29), detectaron sustancias específicas de grupo A, B y H en fluidos tales como: saliva, espermatozoides, sudor y líquido amniótico por técnicas de absorción-elución y aglutinación mixta.

Panari, Rossi y Fiori (1976), (28), encontraron que el semen humano -- contenía las mismas especies moleculares de las sustancias de grupo -- sanguíneo A, B y O(H), existentes en saliva de individuos secretores por técnicas electroforéticas.

Los antígenos sanguíneos A, B y O(H), fueron encontrados en espermatozoides humanos por Kerek (1974), (6), utilizando técnicas de inmunofluorescencia, aglutinación mixta con una mezcla de fluoresceína.

Una comparación entre los métodos de absorción-inhibición y absorción-elución en la detección de antígenos ABO(H), fue realizada por Graves (1978), (22) y colaboradores en muestras vaginales en casos de viola-

ción, encontrando que dichas técnicas son de gran ayuda para la ciencia forense. Demostraron de este modo que la técnica de absorción--elución es más sensible que absorción-inhibición.

Sensabaugh (1978), (21), por métodos de electroforesis, inmuno-electroforesis y doble difusión en gel de Ouchterlony, identifica una proteína del plasma seminal y la describe como un buen marcador genético del semen en casos de violaciones por individuos vasectomizados o aspérmicos; y que podría ser estable en manchas de semen y en el mismo ambiente vaginal, la cual en conjunción con otras evidencias, sería útil para el médico forense.

La identificación de antígenos ABO en fluidos vaginales es propuesta por Soules, Pollard, Brown y Verma (1978), (30), como una evidencia en supuestas violaciones, al igual que la cantidad de fosfatasa ácida -- prostática presente.

Recientes investigaciones realizadas por Davies (1982), (20), demostraron que algunos antígenos de grupo sanguíneo ABO(H) se encontraban presentes en manchas de mezclas de semen y material vaginal utilizando -- técnicas de absorción-elución y absorción-inhibición. Estas manchas de mezclas de semen y material vaginal se encontraban presentes sobre la ropa interior de la víctima sexual.

Adoptando un método de absorción-elución o aglutinación mixta, los antígenos de grupo sanguíneo ABH, pueden ser detectados en sangre o manchas de fluidos del cuerpo.

En el año de 1983, Sagisaka y colaboradores (25) demostraron una vez -

más que el grupo sanguíneo es dependiente del estado secretor. En sus experimentos con saliva y semen de un individuo secretor, fueron detectados los antígenos A y B por el método de aglutinación mixta modificada. Concluyendo que ésta era más sensible que otras pruebas, con la desventaja de no poderse utilizar para detectar antígenos de grupo sanguíneo en extractos de manchas de sangre. (25)

El antígeno A de manchas de sangre y fluidos corporales, tales como: - saliva, semen y sudor fueron distinguidos serológicamente, utilizando suero inmune anti-A por Sagisaka, Twasa y Yokoi en 1984, (24) utilizando técnicas de absorción, elución e inhibición.

SUSTANCIAS DE GRUPO SANGUINEO "ABO(H)" ENCONTRADAS EN:

FLUIDOS DE SECRETORES	CELULAS U ORGANOS
PLASMA SEMINAL	ERITROCITOS
JUGO GASTRICO	LEUCOCITOS
JUGO DUODENAL	ESPERMATOZOIDES
BILIS	MUSCULO
LIQUIDO AMNIOTICO	ESTOMAGO
SECRECIONES VAGINALES	PANCREAS
LAGRIMAS	PIEL
SUDOR	INTESTINO
SALIVA	HIGADO
	CORAZON
	BAZO
	TUMORES
	RINON
	TESTICULOS
	PULMON
	ETC.

ANTIGENOS ENCONTRADOS EN ESPERMA DE SECRETORES	
<u>ANTIGENOS</u>	<u>ESPERMA</u>
ABO	+
MN	+
Le(a)	+
Le(b)	+
D(Rh ₀)	+
Tja	+
H-LA	+

SISTEMAS ANTIGENICOS EN SEMEN HUMANO DE INDIVIDUOS SECRETORES		
<u>SISTEMA ANTIGENICO</u>	<u>PLASMA SEMINAL</u>	<u>ESPERMA</u>
ABO	+	+
D(Rh ₀)	+	+
MN	+	+
Tja	+	+
Lewis	+	+
H-LA	+	+

+ = presente - = ausente

CONCENTRACION DE LOS ANTIGENOS A, B Y H EN VARIAS SECRECIONES

SECRECIONES	PORCENTAJE DE LAS SECRECIONES MAS REACTIVAS (%)
Jugo gástrico	100
Saliva	82
Bilis	74
Seman	69
Orina	16

PARTE EXPERIMENTAL

IV. - PARTE EXPERIMENTAL

1. - Material.

- Tubos de ensayo de 12 X 75
- Tubos de ensayo de 13 X 100
- Pipetas graduadas de 0.1 ml.
- Pipetas graduadas de 0.2 ml.
- Pipetas graduadas de 1.0 ml.
- Pipetas graduadas de 5.0 ml.
- Pipetas graduadas de 10.0 ml.
- Pipetas Pasteur c/bulbo
- Matraces Erlenmeyer de 250 ml.
- Vasos de precipitados de 100 ml.
- Vasos de precipitados de 250 ml.
- Vasos de precipitados de 500 ml.
- Matraz aforado de 1000 ml.
- Gradilla metálica para 40 tubos
- Frascos ámbar de 30 ml.
- Frasco ámbar de 1000 ml.
- Centrífuga
- Tijeras.
- Kleenex
- Tela

2.- Reactivos.

- Cloruro de sodio Q.P.
- Glóbulos rojos A, B, AB y O
- Sueros anti-A, anti-B, anti-AB
- Lectina anti-H; la cual fue donada por el Banco de Sangre del Centro Médico Nacional.

2.1.- Obtención de la muestra.

Muestras de esperma de diferentes donadores. De estas muestras se reunieron un total de 360 de los diferentes grupos sanguíneos, las primeras 310 muestras fueron donadas por el Departamento de Hormonas de los Laboratorios Centrales del Hospital General de México de la Secretaría de Salud.

Las otras 50 muestras de esperma restantes, fueron donadas por personas voluntarias, de las cuales se conocía su grupo sanguíneo.

Las muestras de esperma donadas por el Hospital General se recibieron en tubos de ensayo de 2ml., posteriormente se vaciaron en papel o en tela después de haber investigado si contenían espermatozoides, debido a que pertenecían a personas que estaban en tratamiento o con problemas de esterilidad.

3.- Método.

3.1.- Determinación de la actividad de la lectina anti-H. Se preparan suspensiones al 2% de eritrocitos en S.S.I. de grupos sanguíneos A₁, A₂ y O. Lavándolos con solución salina isotónica varias veces (2 o 3), centrifugando -- hasta que el sobrenadante quede claro; se toman 0.02 ml. de cada grupo sanguíneo y se les agrega 1 ml. de solución salina isotónica quedando así al 2%.

En tubos de ensayo de 13 X 100 previamente etiquetados se coloca una gota de la suspensión de eritrocitos al 2% de cada grupo sanguíneo y una gota de lectina anti-H. Se deja reposar a temperatura ambiente de 2 a 5 minutos, se centrifugan los tubos a 1000 r.p.m. durante un minuto o 3400 r.p.m. durante 30 segundos. Se agitan suavemente los tubos y se observan los resultados.

INTERPRETACION DE RESULTADOS.

- POSITIVO:**
- + + + + Completa hemaglutinación, se forma un botón.
 - + + + Se destruye parcialmente el botón.
 - + + La destrucción del botón es casi completa.
 - + Se destruye totalmente el botón, se observan grumos.
- NEGATIVO:**
- Reacción de hemaglutinación negativa, suspensión homogénea.

3.2.- Resultados.

Grupo sanguíneo "0" + + + +

Grupo sanguíneo "A₂" + + + +

Grupo sanguíneo "A₁" - - - -

Con los resultados obtenidos, se comprueba que la lectina anti-H se encuentra totalmente activa.

El subgrupo sanguíneo A₁ teóricamente contiene una mínima cantidad de la sustancia H; razón por la cual es imposible apreciar una reacción positiva. En el suero de los eritrocitos A₁, la sustancia H se presenta en forma inconstante y éstos no reaccionan con la lectina anti-H.

4.- Preparación de suspensión de eritrocitos A, B, AB y O al 5%.

De las muestras obtenidas de eritrocitos AB0, (estas muestras de eritrocitos fueron donadas por el Banco de Sangre del Centro Médico Nacional, se reponían continuamente por muestras más recientes); se preparan suspensiones al 5%, lavando los eritrocitos con solución salina isotónica tres veces, centrifugando hasta que el sobrenadante quede transparente. Resuspender el paquete globular, tomar 1 ml. de éstos y agregar 20 ml. de solución salina isotónica para obtener una suspensión al 5% de cada grupo sanguíneo, guardándolos en frascos ámbar de 30 ml. previamente etiquetados como A, B, AB y O. Estas suspensiones se preparan cada 4 días aproximadamente o cuando presenten hemólisis para evitar interpretaciones erró-

neas en los resultados.

5.- Preparación de antisueros.

Los antisueros son diluidos para evitar el exceso de anticuerpos y con ésto la formación de fenómenos de zona. La lectina anti-H se diluye solamente 1:2, porque disminuye su actividad si se realiza una dilución más alta. Y si se usa después de 24 horas afecta su actividad dando resultados falsos.

Después de realizar varias diluciones de los sueros anti-A, anti-B y anti-AB, se encontró que la dilución más adecuada para este experimento era de 1:50.

6.- Técnica de inhibición de hemaglutinación.

- a) Cortar pequeños fragmentos de aproximadamente 0.5 cm^2 del tamaño de las manchas de esmeralda del papel o tela y se colocan en 4 tubos de ensayo de 13 X 100 previamente etiquetados. (A, B, AB y 0)
- b) Añadir 5 a 8 gotas de cada suero: anti-A, anti-B, anti-AB, diluidos 1:50 y lectina anti-H diluida 1:2 a los tubos correspondientes.
- c) Agitar los tubos e incubar a temperatura ambiente 20-22°C durante 15 a 20 minutos.
- c) Pasar 3 gotas de cada tubo, a tubos de 12 X 75 etiquetados (A, B, AB y 0), agregar a cada tubo 3 gotas de una suspen-

sión de glóbulos rojos A, B, AB y 0 al 5% a los tubos correspondientes.

e) Preparar controles positivos y negativos de hemaglutinación con el mismo papel o tela sin muestra, siguiendo los pasos anteriores.

f) Centrifugar los tubos a 1500 r.p.m. durante 1 minuto.

g) Leer los resultados agitando suavemente los tubos.

7.- Interpretación de resultados.

+ = Reacción de inhibición de hemaglutinación -
negativa.

- = Reacción de inhibición de hemaglutinación -
positiva.

RESULTADOS Y DISCUSION

V. - RESULTADOS Y DISCUSION

De acuerdo a los resultados obtenidos en las siguientes tablas, observamos que es posible determinar antígenos del grupo sanguíneo ABO(H) - en manchas de esperma, en individuos secretores. Por el método de inhibición de hemaglutinación, utilizando sueros anti-A, anti-B, anti-AB y lectina anti-H.

Un individuo secretor de grupo sanguíneo A secreta sustancias A y H, obteniendo inhibición de hemaglutinación con el suero anti-A y anti-H; un individuo secretor de grupo sanguíneo B secreta sustancias B y H, obteniendo inhibición de hemaglutinación con el suero anti-B y anti-H; del mismo modo un secretor AB, aunque contiene poca sustancia H, secreta sustancias A, B y H, por lo tanto se obtiene inhibición de hemaglutinación con el suero anti-A, anti-B, anti-AB y anti-H. En cambio, un secretor de grupo sanguíneo O sólo secreta la sustancia precursora "H" y sólo existe inhibición con el suero anti-H.

Asimismo, se detectó que en algunas muestras no existió inhibición de hemaglutinación con ningún suero, indicando que dichas muestras pertenecían a individuos no-secretores, y se les aprobó como antígenos ABO(H) no presentes en la muestra.

De las 360 muestras analizadas, 107 fueron de grupo sanguíneo "A", 72 de grupo sanguíneo "B", 20 de grupo sanguíneo AB y 140 de grupo sanguíneo "O", encontrándose que 21 muestras fueron de individuos no-secretores (Tabla 10). En la Tabla 11 se analizan 50 muestras de individuos donadores de los que se conocía su grupo sanguíneo con los resultados

obtenidos por la técnica de inhibición de hemaglutinación en manchas de esperma.

El porcentaje del grupo sanguíneo ABO(H) de las 310 muestras analizadas, las cuales fueron donadas por el Hospital General, y de las 50 -- muestras de donadores voluntarios de grupo sanguíneo conocido, se encuentran en las Tablas 12 y 13 respectivamente.

La distribución del grupo sanguíneo ABO(H) de pacientes en tratamiento contra esterilidad, nos hace sospechar que la técnica de inhibición de hemaglutinación no sea un procedimiento totalmente confiable para la - determinación del grupo sanguíneo ABO(H) en manchas de esperma, para - este tipo de población (Tabla 12). Asimismo, notamos que la distribución del grupo sanguíneo ABO(H) de la población de muestras de esperma donadas por el Hospital General no concuerda con lo reportado en la literatura especializada.

Sin embargo, la población de donadores voluntarios de grupo sanguíneo conocido se apega mucho más a esta distribución (Tabla 13), por lo que suponemos que la técnica empleada es bastante aceptable.

TABLA NO. 1

MUESTRAS DE ESPERMA CON ANTICUEROS A B AB H	GLOBULOS ROJOS				SUSTANCIA DE GRUPO SANGUINEO SECRETADA EN LA MUESTRA	GRUPO SANGUINEO		
	A	B	AB	O		A	B	O
1	+	+	+	-	H		O	
2	+	+	+	-	H		O	
3	+	+	+	-	H		O	
4	+	+	+	-	H		O	
5	-	+	+	-	A y H		O	A
6	+	+	+	-	H		O	
7	+	+	+	-	H		O	
8	+	+	+	+	No Secretor		N.P.	
9	-	+	+	-	A y H		A	
10	-	+	+	-	A y H		A	
11	+	+	+	-	H		O	
12	+	+	+	-	H		O	
13	-	+	+	-	A y H		O	A
14	+	+	+	-	H		O	
15	+	+	+	-	H		O	
16	+	+	+	-	H		O	
17	+	-	+	-	B y H		B	
18	+	-	+	-	B y H		B	
19	-	-	-	-	A, B y H		AB	
20	-	+	+	-	A y H		A	
21	+	+	+	-	H		O	
22	+	+	+	-	H		O	
23	-	-	-	-	A, B y H		AB	
24	+	+	+	+	No Secretor		N.P.	
25	-	+	+	-	A y H		A	
26	+	+	+	+	No Secretor		N.P.	
27	+	+	+	-	H		O	
28	+	+	+	-	H		O	
29	-	+	+	-	A y H		A	
30	-	+	+	-	A y H		A	
31	-	+	+	-	A y H		A	
32	+	-	+	-	A y H		A	
33	+	+	+	-	B y H		B	
34	+	+	+	-	H		O	
35	-	+	+	-	A y H		A	
36	-	+	+	-	A y H		A	
37	+	-	+	-	H		O	
38	+	+	+	-	B y H		B	
39	+	-	+	-	B y H		B	
40	-	+	+	-	A y H		A	
41	-	+	+	-	A y H		A	

TABLA NO. 2

MUESTRAS DE ESPERMA CON ANTICUEROS				GLOBULOS ROJOS				SUSTANCIA DE GRUPO SANGUINEO SECRETADA EN LA MUESTRA	GRUPO SANGUINEO			
A	B	AB	H	A	B	AB	O		A	B	AB	O
41	+	+	+	-				H				O
42	+	+	+	-				H				O
43	+	+	+	-				H				O
44	+	+	+	-				H				O
45	+	-	+	-				ByH			B	O
46	+	-	+	-				ByH			B	O
47	+	-	+	-				ByH			B	O
48	-	+	+	-				AyH			A	O
49	-	+	+	-				AyH			A	O
50	+	+	+	-				H				O
51	+	+	+	-				H				O
52	-	-	-	-				A,ByH			AB	
53	-	+	+	-				AyH			A	A
54	-	+	+	-				AyH			A	A
55	+	+	+	+				No Secretor			N.P.	
56	+	+	+	-				H				O
57	-	+	+	-				AyH			A	A
58	-	+	+	-				AyH			A	A
59	+	-	+	-				ByH			B	O
60	+	-	+	-				ByH			B	O
61	+	+	+	-				H				O
62	+	+	+	-				H				O
63	+	+	+	-				H				O
64	+	+	+	-				H				O
65	-	-	-	-				A,ByH			AB	
66	-	-	-	-				A,ByH			AB	
67	-	+	+	-				AyH			A	A
68	+	-	+	-				ByH			B	O
69	+	-	+	-				ByH			B	O
70	+	+	+	-				H				O
71	+	-	+	-				ByH			B	O
72	-	+	+	-				AyH			A	A
73	+	+	+	-				H				O
74	-	+	+	-				AyH			A	A
75	-	-	+	-				ByH			B	O
76	+	+	+	-				H				O
77	+	-	+	-				ByH			B	O
78	-	+	+	-				AyH			A	A
79	-	+	+	-				ByH			B	O
80	+	+	+	-				H				O

N. P. = No. Presente

TABLA NO. 3

MUESTRAS DE ESPERMA CON ANTICUEROS A B AB H	GLOBULOS ROJOS				SUSTANCIA DE GRUPO SANGUINEO SECRETADA EN LA MUESTRA	GRUPO SANGUINEO A B O		
	A	B	AB	O		A	B	O
81	+	+	+	-	H			O
82	+	+	+	-	H			O
83	+	+	+	-	H			O
84	-	-	-	-	A,ByH			AB
85	-	-	-	-	A,ByH			AB
86	+	+	+	+	No Secretor			N.P.
87	+	+	+	-	H			O
88	+	+	+	-	H			O
89	+	+	+	-	H			O
90	-	+	+	-	A y H			A
91	+	+	+	-	H			O
92	+	+	+	-	H			O
93	+	+	+	-	H			O
94	-	+	+	-	A y H			A
95	+	+	+	-	H			O
96	+	+	+	-	H			O
97	+	+	+	-	H			O
98	+	+	+	+	No Secretor			N.P.
99	+	+	+	-	H			O
100	+	+	+	-	H			O
101	-	+	+	-	A y H			A
102	-	+	+	-	A y H			A
103	+	+	+	-	H			O
104	+	+	+	+	No Secretor			N.P.
105	-	+	+	-	A y H			A
106	+	+	+	-	H			O
107	+	+	+	-	H			O
108	+	+	+	-	H			O
109	+	+	+	+	No Secretor			N.P.
110	-	+	+	-	A y H			A
111	+	+	+	-	H			O
112	+	+	+	-	H			O
113	+	+	+	+	No Secretor			N.P.
114	+	+	+	-	H			O
115	-	+	+	-	A y H			A
116	+	-	+	-	ByH			B
117	-	+	+	-	A y H			A
118	+	+	+	-	H			O
119	+	+	+	-	H			O
120	+	-	+	-	ByH			B

N. P. = No Presente

TABLA NO. 4

MUESTRAS DE ESPERMA CON ANTICUEROS A B AB H	GLOBULOS ROJOS				SUSTANCIA DE GRUPO SANGUINEO SECRETADA EN LA MUESTRA	GRUPO SANGUINEO		
	A	B	AB	O		A	B	O
121	+	-	+	-	ByH		B	
122	+	-	+	-	ByH		B	
123	-	+	+	-	AyH		A	
124	+	+	+	-	H		O	
125	+	+	+	-	H		O	
126	+	-	+	-	ByH		B	
127	-	+	+	-	AyH		A	
128	+	+	+	+	No Secretor		N.P.	
129	-	-	-	-	A, B y H		AB	
130	+	+	+	-	H		O	
131	-	-	-	-	A, B y H		AB	
132	+	-	+	-	ByH		B	
133	+	-	+	-	ByH		B	
134	+	+	+	-	H		O	
135	+	+	+	+	No Secretor		N.P.	
136	+	-	+	-	ByH		B	
137	+	-	+	-	ByH		B	
138	-	+	+	-	AyH		A	
139	+	+	+	-	H		O	
140	+	+	+	-	H		O	
141	-	+	+	-	AyH		A	
142	-	+	+	-	AyH		A	
143	+	+	+	-	H		O	
144	+	+	+	-	H		O	
145	+	+	+	-	H		O	
146	+	+	+	-	H		O	
147	+	-	+	-	ByH		B	
148	-	+	+	-	AyH		A	
149	+	+	+	-	H		O	
150	+	-	+	-	ByH		B	
151	+	+	+	-	H		O	
152	-	+	+	-	AyH		A	
153	-	+	+	-	AyH		A	
154	+	+	+	-	H		O	
155	+	+	+	-	H		O	
156	+	+	+	-	H		O	
157	+	+	+	-	H		O	
158	+	+	+	-	H		O	
159	-	+	+	-	AyH		A	
160	-	+	+	-	AyH		A	

N.P. = No Presente

TABLA NO. 5

MUESTRAS DE ESPERMA CON ANTISUEROS				GLOBULOS ROJOS				SUSTANCIA DE GRUPO SANGUINEO SECRETADA EN LA MUESTRA	GRUPO SANGUINEO		
A	B	AB	H	A	B	AB	O		A	B	O
161	-	-	-	-	-	-	-	A,ByH			AB
162	-	+	+	-	-	-	-	AyH			A
163	-	-	-	-	-	-	-	A,ByH			AB
164	+	+	+	-	-	-	-	H			O
165	+	-	+	-	-	-	-	ByH			B
166	+	+	+	-	-	-	-	H			O
167	+	+	+	-	-	-	-	H			O
168	+	+	+	-	-	-	-	H			O
169	-	+	+	-	-	-	-	AyH			A
170	+	+	+	-	-	-	-	H			O
171	+	+	+	-	-	-	-	H			O
172	+	+	+	-	-	-	-	H			O
173	+	+	+	+	-	-	-	No Secretor			N.P.
174	+	+	+	-	-	-	-	H			O
175	-	-	+	-	-	-	-	AyH			A
176	+	+	+	-	-	-	-	ByH			B
177	+	-	+	-	-	-	-	ByH			B
178	-	+	+	-	-	-	-	AyH			A
179	+	-	+	-	-	-	-	ByH			B
180	-	+	+	-	-	-	-	AyH			A
181	+	+	+	+	-	-	-	No Secretor			N.P.
182	+	+	+	-	-	-	-	H			O
183	+	+	+	-	-	-	-	H			O
184	+	-	+	-	-	-	-	ByH			B
185	+	+	+	-	-	-	-	ByH			B
186	+	+	+	-	-	-	-	H			O
187	+	+	+	-	-	-	-	H			O
188	-	+	+	-	-	-	-	AyH			A
189	-	+	+	-	-	-	-	AyH			A
190	-	+	+	-	-	-	-	AyH			A
191	-	+	+	-	-	-	-	AyH			A
192	+	+	+	-	-	-	-	H			O
193	+	+	+	-	-	-	-	H			O
194	-	+	+	-	-	-	-	AyH			A
195	+	+	+	-	-	-	-	H			O
196	+	+	+	-	-	-	-	H			O
197	+	-	+	-	-	-	-	ByH			B
198	+	+	+	-	-	-	-	ByH			B
199	-	+	+	-	-	-	-	AyH			A
200	+	-	+	-	-	-	-	ByH			B

N.P. = No Presente

TABLA NO. 6

MUESTRAS DE ESPERMA CON ANTICUEROS A B AB H	GLOBULOS ROJOS				SUSTANCIA DE GRUPO SANGUINEO SECRETADA EN LA MUESTRA	GRUPO SANGUINEO A B O		
	A	B	AB	O		A	B	O
201	-	+	+	-	AyH		A	
202	+	-	+	-	ByH		B	
203	-	+	+	-	AyH		A	
204	-	+	+	-	AyH		A	
205	-	+	+	-	AyH		A	
206	+	+	+	-	H		O	
207	+	+	+	-	H		O	
208	+	+	+	-	H		O	
209	+	+	+	-	H		O	
210	+	+	+	+	No Secretor		N.P.	
211	-	-	-	-	A,B yH		AB	
212	+	+	+	-	H		O	
213	-	+	+	-	AyH		A	
214	+	-	-	-	ByH		B	
215	-	-	-	-	A,B yH		AB	
216	+	-	+	-	ByH		B	
217	+	-	+	-	ByH		B	
218	+	+	+	-	H		O	
219	+	-	+	-	ByH		B	
220	-	+	+	-	AyH		A	
221	+	+	+	-	H		O	
222	+	-	+	-	ByH		B	
223	-	+	+	-	AyH		A	
224	-	+	+	-	AyH		A	
225	+	+	+	+	No Secretor		N.P.	
226	-	+	+	-	AyH		A	
227	+	+	+	+	No Secretor		N.P.	
228	-	+	+	-	AyH		A	
229	-	+	+	-	AyH		A	
230	-	+	+	-	AyH		A	
231	-	-	-	-	A,B yH		AB	
232	+	+	+	-	H		O	
233	+	+	+	-	H		O	
234	+	+	+	-	H		O	
235	-	+	+	-	AyH		A	
236	-	+	+	-	AyH		A	
237	+	+	+	-	H		O	
238	+	-	+	-	ByH		B	
239	+	+	+	-	H		O	
240	+	+	+	-	H		O	

TABLA NO. 7

MUESTRAS DE ESPERMA CON ANTICUEROS A B AB H	GLOBULOS ROJOS				SUSTANCIA DE GRUPO SANGUINEO SECRETADA EN LA MUESTRA	GRUPO SANGUINEO		
	A	B	AB	O		A	B	O
241	-	+	+	-	AyH	A		
242	-	+	+	-	AyH	A		
243	+	+	+	-	H			
244	+	+	+	-	H			
245	+	-	+	-	ByH	B		
247	-	+	+	-	AyH	A		
248	-	+	+	-	AyH	A		
249	+	+	+	+	H			
250	+	+	+	+	No Secretor	N.P.		
251	+	+	+	-	H			
252	+	+	+	-	H			
253	-	-	-	-	A, B y H	AB		
254	-	+	+	-	AyH	A		
255	-	+	+	-	AyH	A		
256	+	+	+	+	No Secretor	N.P.		
257	-	+	+	-	AyH	A		
258	+	+	+	+	No Secretor	N.P.		
259	+	-	+	-	ByH	B		
260	+	-	+	-	ByH	B		
261	-	+	+	-	AyH	A		
262	+	+	+	+	No Secretor	N.P.		
263	-	+	+	-	AyH	A		
264	-	+	+	-	AyH	A		
265	+	+	+	-	H			
266	+	+	+	-	H			
267	+	+	+	-	H			
268	-	+	+	-	AyH	A		
269	-	+	+	-	AyH	A		
270	-	+	+	-	AyH	A		
271	+	-	+	-	ByH	B		
272	-	-	-	-	A, ByH	AB		
273	+	+	+	+	No Secretor	N.P.		
274	-	+	+	-	AyH	A		
275	-	+	+	-	AyH	A		
276	+	+	+	-	H			
277	+	-	+	-	ByH	B		
278	-	-	-	-	A, ByH	AB		
279	+	+	+	-	H			
280	+	-	+	-	ByH	B		

N. P. = No Presente

TABLA NO. 8

MUESTRAS DE ESPERMA CON ANTICUEROS	GLOBULOS ROJOS				SUSTANCIA DE GRUPO SANGUINEO SECRETADA EN LA MUESTRA	GRUPO SANGUINEO		
	A	B	AB	O		A	B	O
281	+	+	+	-	H		O	
282	+	+	+	-	H		O	
283	+	+	+	-	H		O	
284	-	+	+	-	AyH		A	
285	-	+	+	-	AyH		A	
286	+	+	+	-	H		O	
287	+	+	+	-	H		O	
288	+	+	+	-	H		O	
289	+	-	+	-	ByH		B	
290	+	-	+	-	ByH		B	
291	+	+	+	-	H		O	
292	+	-	+	-	ByH		B	
293	-	+	+	-	AyH		A	
294	+	-	+	-	ByH		B	
295	+	-	+	-	ByH		B	
296	+	+	+	-	H		O	
297	+	+	+	-	H		O	
298	+	+	+	-	H		O	
299	-	+	+	-	AyH		A	
300	-	+	+	-	AyH		A	
301	+	-	+	-	ByH		B	
302	+	+	+	-	H		O	
303	+	+	+	-	H		O	
304	+	+	+	-	H		O	
305	+	-	+	-	ByH		B	
306	-	+	+	-	AyH		A	
307	-	+	+	-	AyH		A	
308	-	+	+	-	AyH		A	
309	+	+	+	-	H		O	
310	-	+	+	-	AyH		A	
311	-	+	+	-	AyH		A	
312	+	+	+	-	AyH		A	
313	+	+	+	-	H		O	
314	+	+	+	-	H		O	
315	+	-	+	-	ByH		B	
316	+	-	+	-	ByH		B	
317	-	-	-	-	A,ByH		AB	
318	+	+	+	-	H		O	
319	+	+	+	-	H		O	
320	-	+	+	-	AyH		A	

TAELA NO. 9

MUESTRAS DE ESPERMA CON ANTICUEROS					GLOBULOS ROJOS				SUSTANCIA DE GRUPO SANGUINEO SECRETADA EN LA MUESTRA	GRUPO SANGUINEO		
A	B	AB	H		A	B	AB	O		A	B	O
321	-	-	-	-	-	-	-	-	A,ByH		AB	
322	+	+	+	-	+	+	+	-	H		O	
323	-	+	+	-	-	+	+	-	AyH		A	
324	-	+	+	-	-	+	+	-	AyH		A	
325	-	+	+	-	-	+	+	-	AyH		A	
326	+	+	+	-	-	+	+	-	H		O	
327	+	-	+	-	-	+	+	-	ByH		B	
328	+	-	+	-	-	+	+	-	ByH		B	
329	+	-	+	-	-	+	+	-	ByH		B	
330	+	-	+	-	-	+	+	-	ByH		B	
331	+	-	+	-	-	+	+	-	ByH		B	
332	-	+	+	-	-	+	+	-	AyH		A	
333	-	+	+	-	-	+	+	-	AyH		A	
334	-	+	+	-	-	+	+	-	AyH		A	
335	+	+	+	-	-	+	+	-	H		O	
336	+	-	+	-	-	+	+	-	ByH		B	
337	-	+	+	-	-	+	+	-	AyH		A	
338	-	+	+	-	-	+	+	-	AyH		A	
339	-	+	+	-	-	+	+	-	AyH		A	
340	-	+	+	-	-	+	+	-	AyH		A	
341	+	+	+	-	-	+	+	-	H		O	
342	+	-	+	-	-	+	+	-	ByH		B	
343	-	-	-	-	-	-	-	-	A,ByH		AB	
344	+	-	+	-	-	+	+	-	ByH		B	
345	-	+	+	-	-	+	+	-	AyH		A	
346	-	+	+	-	-	+	+	-	AyH		A	
347	+	-	+	-	-	+	+	-	ByH		B	
348	+	-	+	-	-	+	+	-	ByH		B	
349	+	+	+	-	-	+	+	-	H		O	
350	+	+	+	-	-	+	+	-	H		O	
351	-	+	+	-	-	+	+	-	AyH		A	
352	-	+	+	-	-	+	+	-	AyH		A	
353	+	+	+	-	-	+	+	-	H		O	
354	-	+	+	-	-	+	+	-	AyH		A	
355	+	-	+	-	-	+	+	-	ByH		B	
356	+	-	+	-	-	+	+	-	ByH		B	
357	+	+	+	-	-	+	+	-	H		O	
358	+	-	+	-	-	+	+	-	ByH		B	
359	+	+	+	-	-	+	+	-	H		O	
360	+	-	+	-	-	+	+	-	ByH		B	

TABLA NO. 10

No. de muestras de esperma	Muestras - de esperma grupo "A"	Muestras - de esperma grupo "B"	Muestras - de esperma grupo "AB"	Muestras - de esperma grupo "O"	No. de muestras de no secretores
360	107	72	20	140	21
En papel 300	98	65	15	101	21
En tela 60	9	7	5	39	0

Para asegurar que la técnica utilizada era confiable, de las 360 muestras de esperma, 50 eran de individuos de grupo sanguíneo ABO(H) conocido; el cual se determinó por historia clínica y por medio de la técnica de hemaglutinación en portaobjetos.

TABLA NO. 11

RELACION DE MUESTRAS DE GRUPO SANGUINEO CONOCIDO DE DONADORES VOLUNTARIOS
(SE INVESTIGO SU GRUPO SANGUINEO ABO EN SANGRE)

No. de muestra de esperma de grupo sanguíneo conocido	Grupo sanguíneo conocido por técnica en portaobjetos	Técnica de inhibición de Hemaglutinación
1	O	O
2	O	O
3	A	A
4	A	A
5	O	No secretor
6	O	O
7	A	A
8	B	B
9	A	A
10	A	A
11	O	O
12	O	O
13	O	O
14	O	O
15	O	No secretor
16	B	B
17	A	A
18	O	O
19	A	No secretor
20	O	No secretor
21	O	O
22	B	B
23	O	O
24	AB	AB

No. de muestra de esperma de grupo sanguíneo conocido	Grupo sanguíneo conocido por técnica en portaobjetos	Técnica de inhibición de Hemaglutinación
25	A	A
26	O	O
27	O	O
28	O	O
29	O	O
30	O	No secretor
31	O	O
32	O	O
33	O	O
34	O	O
35	O	O
36	O	No secretor
37	O	O
38	B	B
39	A	A
40	O	O
41	O	O
42	B	No secretor
43	O	O
44	O	O
45	O	O
46	A	A
47	A	No secretor
48	O	O
49	O	O
50	O	O

TABLA NO. 12

PORCENTAJE DE GRUPO SANGUINEO ABO(H) DE 310 MUESTRAS ANALIZADAS DONADAS POR EL HOSPITAL GENERAL.

GRUPO SANGUINEO ABO(H) EN MUESTRAS DE ESPERMA ANALIZADAS	PORCENTAJE (%)
A	31.6
B	21.9
AB	6.1
O	36.1
NO SECRETOR	4.1

TABLA NO. 13

PORCENTAJE DE GRUPO SANGUINEO ABO(H) DE 50 MUESTRAS ANALIZADAS DE DONADORES VOLUNTARIOS.

GRUPO SANGUINEO ABO(H) EN MUESTRAS DE ESPERMA ANALIZADAS	PORCENTAJE (%)
A	18
B	8
AB	2
O	56
NO SECRETOR	16

CONCLUSIONES

VI.- CONCLUSIONES

Aún cuando la sangre es el fluido fisiológico al que se le ha prestado mayor atención en el área de la investigación, el semen ocupa el segundo lugar, debido a la gran incidencia de delitos sexuales y crímenes - asociados con irregularidades sexuales.

Las manchas seminales pueden encontrarse en cualquier caso que involucre actividad sexual y pueden estar presentes en delitos en los cuales no hay razón especial de sospecha de tales actos.

La determinación de los antígenos del sistema ABO(H), en trazas de semen en tela o papel, por el método de inhibición de hemaglutinación, - se realizó en las diferentes muestras de esperma donadas; asimismo, se encontró que las manchas de esperma contienen las mismas sustancias de grupo sanguíneo que las que se encuentran en sangre y saliva.

En base a los resultados obtenidos se detectó que solamente los individuos secretores, son capaces de secretar antígenos sanguíneos del sistema ABO, en los líquidos corporales; la determinación del grupo sanguíneo ABO(H), en manchas de esperma, fue posible sólo en secretores, pero no en individuos no-secretores.

De acuerdo a los resultados obtenidos la técnica de inhibición de la hemaglutinación utilizada para la determinación de estos antígenos se considera adecuada, así como sensible y confiable. El tiempo empleado

para la determinación de antígenos del grupo sanguíneo ABO(H) en manchas de esperma por medio de esta técnica es corto, comparado con otras técnicas; capaz de detectar pequeñas cantidades de antígenos en manchas de semen.

Los reactivos utilizados no involucran un gran desembolso monetario, - en la actualidad todo laboratorio de investigación en la rama inmunológica cuentan con dicho material. La reproducibilidad de la técnica se ve ampliamente marcada en la realización del total de muestras analizadas donde se obtuvieron resultados satisfactorios, por lo que concluimos que puede realizarse a nivel de laboratorio.

En esta revisión, nuestra esperanza es que algunos problemas donde intervenga la ciencia forense, sean esclarecidos y pueda servir como una guía para futuras investigaciones.

BIBLIOGRAFIA

VII.- BIBLIOGRAFIA

1. Blake, F.T., B.S. and G.F. Sensabaugh, D.Crim. 1976: Genetic Marks in Human Semen: A Review. Journal of Forensic Sciences 21(4): -- 784-796.
2. Edwards, R.G., L.C. Ferguson and R.R.A. Coombs. 1964: Blood Group Antigens on Human Spermatozoa. Journal of Reproduction and Fertility 7:153-161.
3. Boettcher, B. 1968: Correlation Between Human ABO Blood Group Antigens in Seminal Plasma and on Seminal Spermatozoa. Journal of --- Reproduction and Fertility 16(1): 49-54.
4. Boettcher, B. 1965: Human ABO Blood Group Antigens on Spermatozoa from Secretors and Non-Secretors. Journal of Reproduction and --- Fertility 9(2): 267-268.
5. Shahani, S.M.D., A.L.M.D. Southam. 1962: Immunofluorescent Study - of the ABO Blood Group Antigens in Human Spermatozoa. American -- Journal of Obstetrics and Gynecology 84(5): 660-666.
6. Gyorgyi, K. 1974: Distribution of the Blood Group Antigens A and B on Human Spermatozoa. International Journal of Fertility 19:181-191.
7. Gullbring, B. 1957: Investigation on the Occurrence of Blood Group Antigens in Spermatozoa from Man, and Serological Demonstration of the Segregation of Characters. Acta Medica Scandinavica 159(3) : - 169-172.
8. Hogman, C. 1959: The Principle of Mixed Agglutination Applied to - Tissue Culture Systems. Vox Sanguinis 4:12-20.
9. Lodge, T.V. and A. Usher. 1962: Lewis Blood Group Substances in Seminal Fluid. Vox Sanguinis. 7:329-333.
10. Hajska, A., T. Hrabá. 1960: Demonstration of D(Rho) Agglutinogens in Human Spermatozoa. Folia Biologica 6:342-347.
11. Coombs, R.R.A., D. Bedford, L.H. Rouillard. 1956: A and B Blood-- Group Antigens on Human Epidermal Cells. Lancet 21:461-464.
12. Quinlivan, W.L.G. 1969: The Specific Antigens of Human Seminal Plasma. Fertility and Sterility 20(1):50-66.
13. Kirk, P.L. 1973: Crime Investigation. John Wiley and Sons. New -- York. 207-214 p.
14. Hakman, A and R. Phillip. 1969: The Antigens of Human Seminal Plasma. Fertility and Sterility 20(2):312-323.
15. Funderberg, H.H., D.P. Stites, J.L. Caldwell, J.V. Wells. 1980: -- Inmunología. Editorial El Manual Moderno, S.A. Mexico, D.F. 887 p.
16. Dood, B.E., P.J. Lincoln. 1976: Inmunología de los Grupos Sanguíneos Editorial El Manual Moderno, S.A. Mexico, D.F. 219 p.

17. Leeson, T.S., C.R. Leeson. 1970: Histología. Nueva Editorial Interamericana, S.A. de C.V. México, D.F. 479 p.
18. Tortora, G.J., N.P. Anagnostakos. 1977: Principios de Anatomía y Fisiología. Mc. Graw Hill, New York. 670 p.
19. Harris, B.J. 1976: Grupos Sanguíneos y Técnicas para su Identificación. Editorial El Manual Moderno, S.A. México, D.F. 98 p.
20. Davies, A. 1982: The Appearance and Grouping of Mixtures of Semen - and Vaginal Material. Medicine Science and the Law. 22(1):21-30.
21. Sensabangh, G.F., D. Crim. 1978: Isolation and Characterization of a Semen-Specific Protein from Human Seminal Plasma: A Potential -- New Marker for Semen Identification. Journal of Forensic Sciences 23(1):106-109.
22. Graves, M.H., M.A.; J.M. White, B.S.; F.A. Fitz Patrick, B.S.; and M.C. Kuo, M.S. 1978: A Comparison of Absorption-Inhibition and -- Absorption-Elution Methods in the Detection of ABO(H) Antigens -- Found in Vaginal Samples Submitted in Sexual Offense Cases. Journal of Forensic Sciences. 23(2):345-352.
23. Simonin, C.L. 1982: Medicina Legal Judicial. Editorial Jims, S.A. Barcela, 560 p.
24. Sagisaka, K., M. Iwasa, T. Yokoi. 1984: Serological Distinction of Antigen Between Red Blood Cells and Saliva in Blood Grouping of -- Blood and Body Fluids-stains. Tohoku Journal Experimental Medicine 142(2) 142(2):119-123.
25. Sagisaka, K., H. Yamashita, M. Iwasa, T. Yokoi. 1983: A Simple Method to detect AB antigen in Blood Grouping of Body Fluids Stains. Tohoku Journal Experimental Medicine 141(2):237-239.
26. Kelder, K. 1981: The Characterization of Saliva and Seminal Stains in the ABH and Lewis Systems using The Same Stain Extracts. Journal Canadian Forensic Sciences 14(4):165-171.
27. Pereira, M. P.D. Martin. 1976: Problems Involved in the Grouping - of Saliva, Semen and other Body Fluids. Journal of the Forensic -- Science Society 16(2):151-154.
28. Panari, G., G. Rossi, A. Fiori. 1976: Polymorphism of A, B and H - Substances in Seminal Fluid. Journal of Forensic Sciences 7(1):55-60
29. Pereira, M., B. Dood and J. Marchant. 1969: The Detection of A, B and H Group Specific Substances in Stains from Body Fluids by --- Absorption-Elution and Mixed Agglutination Techniques. Medicine -- Science and The Law 9(2):116-121.
30. Soules, M.R., A.A. Pollard, K.M. Brown, M. Varma. 1978: The Forensic Laboratory Evaluation of Evidence in Alleged Rape. Obstetrics and Gynecology 130(2):142-147.
31. Ackerman, D.F. 1969: The Adsorption of Anti-A and Anti-B Antibodies on Human Spermatozoa. Fertility and Sterility 20(2):324-334.

32. Race, R.R., R. Sanger. 1984: Blood Groups in Man Blackwell Scientific Publications, Oxford. 393-415 p.
33. Smijewski, C. M. 1978: Immunohematology 69-90 p.
34. Watkins, W.M. 1966: Blood-Group Substances. Science 152:172-181.
35. Boorman, K.E., Dood, B.E., P.J. Lincoln. 1977: An Introduction to Blood Group Serology (Theory, Techniques, Practical Applications). The Forensic Application of Blood Group Churchill-Livingstone, --- Edinburgh an London.