

2e1
4A



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

“ Un Método Manual para la Detección de los Antígenos del Sistema Rh Hr en Manchas de Sangre Seca Sobre Ropa “

T E S I S

Que para obtener título de

QUIMICO FARMACO-BIOLOGA

P R E S E N T A :

MARIA EUGENIA CARMINA

GARRIDO GRANILLO

México, D. F.

1986



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.

CONTENIDO

	PAG
I PLANTAMIENTO DEL PROBLEMA	1
II OBJETIVO	1
III ANTECEDENTES	1
IV MATERIAL Y METODOS	31
V RESULTADOS Y DISCUSION	48
VI CONCLUSIONES	73
VII BIBLIOGRAFIA	74

I.- Plentamiento del problema.

En nuestro medio , los reportes de grupo sanguíneo ABO y Rh-Hr en manchas de sangre seca sobre ropa son escasos ; - la muestra empleada para este fin es de tamaño considerable y la técnica empleada requiere gran manipulación , por lo que - se consideró poner en marcha una técnica que emplee una muestra menor que requiera menos manipulación y que emplee material común en cualquier Laboratorio , para detectar estos grupos sanguíneos eritrocitarios . Se escogieron las técnicas de Chatterji para la determinación del sistema ABO y la de P. D. Mertin para el sistema Rh-Hr .

II.- Objetivo .

Tomando en cuenta lo anterior y considerando que el estudio de los grupos sanguíneos eritrocitarios ABO y Rh-hr pueden ser evidencias importantes en hechos delictuosos , se pretende diseñar y evaluar una microtécnica con material de uso cotidiano en los Laboratorios .

III.- Antecedentes.

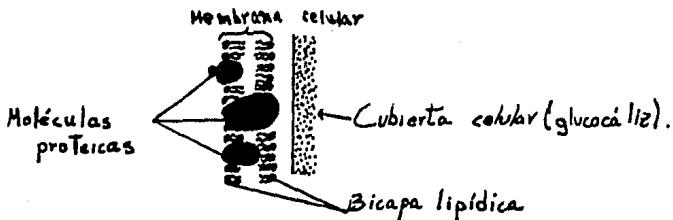
La sangre es un tejido líquido que circula a través -- del cuerpo. Es la encargada de transportar el oxígeno desde los pulmones a los tejidos , así como de la eliminación del CO_2 producido durante el metabolismo respiratorio. Constituye aproximadamente el 8% del peso corporal , esta formada --

por partículas sólidas las cuales son:

- a) Eritrocitos : células sin núcleo que se presentan en cantidad de cuatro a cinco millones por milímetro cúbico . En su membrana o estroma , se encuentran los antígenos de los grupos sanguíneos , fosfolípidos y enzimas

Es importante señalar que en la membrana del eritrocito , estén los antígenos de los grupos sanguíneos mas inmunogénicos que son el A y B del sistema ABO y le siguen el Rho (D) del sistema Rh-Hr .

Los antígenos del sistema ABO se encuentran localizados en la membrana celular, en la parte de los glicolípidos y el antígeno D en la de las proteínas . Como muestra la siguiente figura la estructura de la membrana .



- b) Los leucocitos en proporción de cinco a diez mil por milímetro cúbico están considerados como medio de defensa del organismo . Producen anticuerpos de varios tipos incluyendo anticuerpos de grupos sanguíneos.
- c) Las plaquetas o tromocitos , en cantidad de ciento cincuenta mil a cuatrocientos mil por milímetro cúbico , participan en la coagulación de la sangre (13) .

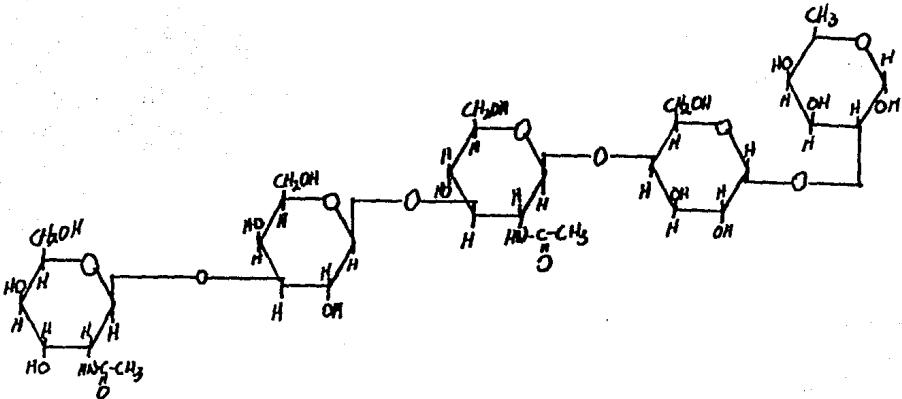
Hay una fracción no celular es el plasma sanguíneo , cuyo 10% aproximadamente del peso corporal , consiste en varios solutos orgánicos e inorgánicos . Las proteínas plasmáticas -- (albúmina , elfe - beta - gamma globulinas) representan las tres cuertes partes del total de solutos , desempeñan varias - funciones importantes .

El suero es la porción líquida que se obtiene después - de la coagulación de la sangre extravasada y se encuentra , -- por lo tanto , desprovista de fibrinógeno .

Los elementos descritos en la sangre , permiten identificarla y efectuar la determinación del grupo sanguíneo eritrocitario.

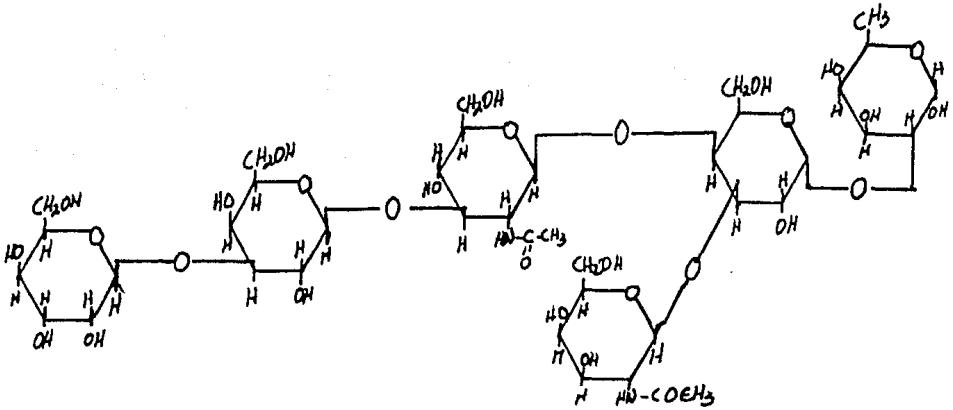
Composición química de las sustancias ABH eritrocitarias.

Substancia precursora "H" .

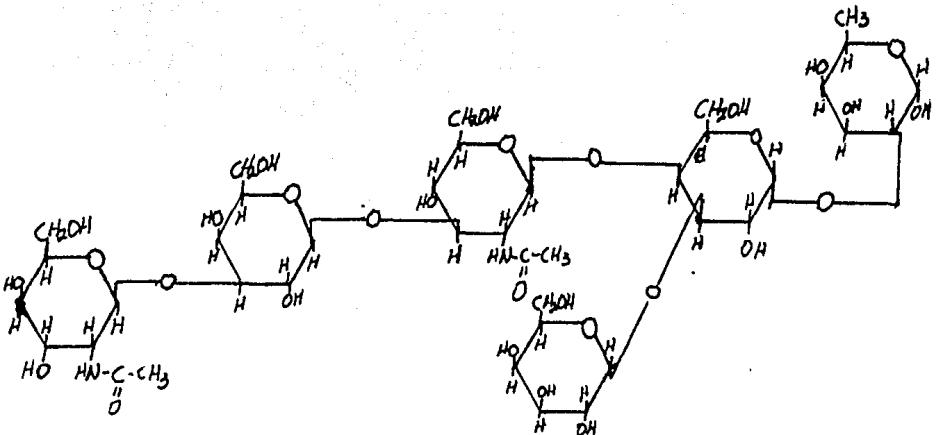


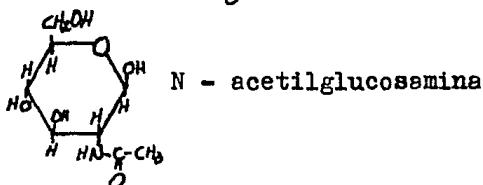
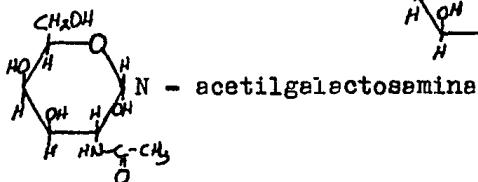
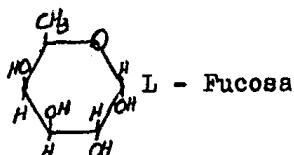
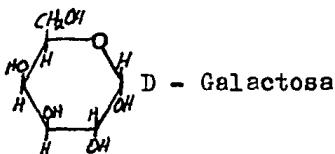
Gen A (adición de la N-acetilgalactosamina a cadenas activas

"H")



Gen B (adición de galactosa a cadenas activas "H")





Los antígenos pueden ser representados como compuestos que constan de dos partes : el grupo determinante antigénico , Hp , hepteno , el cual constituye una pequeña parte del antígeno y es el que reacciona con el anticuerpo , además , le confiere la especificidad e individualidad al antígeno para ser A , B y O.

Los antígenos ABO . Lewis y P son predominantemente compuestos glicolípidicos . Los grupos M , N , S y Fy^a son glicoproteínas y el antígeno D es básicamente una proteína (14) .

Landstainer descubrió en 1901 los grupos sanguíneos A , B y O . Un año después un cuarto grupo sanguíneo eritrocitario menos común , AB fué establecido ; fué este descubrimiento el

que marcó el comienzo de la serología de grupo sanguíneo eritrocitario . De acuerdo a la teoría de Bernstein las características A , B y O son heredadas por medio de tres genes alelomórficos , localizados en el cromosoma 9 (15) . Las sustancias solubles de este grupo se han encontrado en suero , saliva , jugo gástrico , semen , líquido amniótico , sudor , orina , lágrimas , leche materna y bilis (17) .

La tipificación de los grupos sanguíneos eritrocitarios -- ABO se efectúa tomando en cuenta que este grupo , como todos , -- cuenta con antígenos sobre la superficie del eritrocito y anticuerpos antitéticos en el suero , por lo que , se emplean sueros hemoclasificadores para la determinación del antígeno eritrocitario , llamada prueba directa y para la prueba inversa se emplean eritrocitos de grupo conocido para identificar al anticuerpo antitético en el suero.

	Antígeno	Anticuerpo
Grupo A	A	anti-B
Grupo B	B	anti-A
Grupo AB	A y B	-----
Grupo O	-----	anti-A,B

En la práctica se ilustra de la siguiente manera:

	Prueba directa				Prueba inversa			
	anti-A	anti-AB	anti-B	auto-H	A ₁	A ₂	B	O
Grupo A	+	+	-	-	-	-	+	-
Grupo B	-	+	+	-	+	+	-	-
Grupo AB	+	+	+	-	-	-	-	-
Grupo O	-	-	-	-	+	+	+	-

Para la tipificación de los subgrupos de A y de AB , se emplean las lectinas , estas son extractos de semillas que tienen la particularidad de aglutinar algunos eritrocitos humanos Dos extractos son útiles para esos propósitos , el *Dolichos biflorus* , del cual se extrae la lectina anti-A₁ y que reacciona muy fuertemente con subgrupos de A₁ y A₁B .

Y el otro , el extracto de *Ulex europaeus* fuente de anti-H que reacciona fuertemente con los eritrocitos A₂ y A₂B (19) .

En la determinación de los grupos sanguíneos ABO en manchas , en contraste con el grupo sanguíneo ABO en sangre fresca , la lectina anti-H de *Ulex europaeus* es el reactivo más importante , ya que provee una valiosa reacción positiva la cual es particularmente aplicable a las manchas O en situaciones (las cuales son muchas) en que es imposible probar las aglutininas de la mancha , aunque cuando hay suficiente material y no es demasiado viejo el extracto de la mancha , -

puede demostrar suficiente actividad de anticuerpo para la prueba inversa ; las células A y B tratadas con papaína , se usen en tales reacciones .

	anti-A ₁	anti-h	
Grupo A	+	-	A ₁
	-	+	A ₂
	+	+	A ₁ A ₂

	anti-A ₁	anti-H	
Grupo AB	+	-	A ₁ B
	-	+	A ₂ B

La frecuencia de grupo sanguíneo eritrocitario en el Valle de México es la siguiente (26) .

Grupo sanguíneo	Por ciento
O	72.02
A ₁	18.85
A ₂	0.90
B	7.01
A ₁ B	1.13
A ₂ B	0.09

A diferencia de otros grupos étnicos , como en la Población Europea del Oeste (15) .

Grupo sanguíneo	Por ciento
O	44
A ₁	35
A ₂	10
B	8
A ₁ B	2.6
A ₂ B	0.4

En 1940 Landstainer y Wiener descubrieron otro factor eritrocitario humano llamado Rhesus o Rh , porque fué en el mono *Macacus rhesus* donde se encontró ; se sabe que el factor es segregado independientemente de A y B . A partir de este momento se demostró que el sistema Rh-Hr está compuesto por varias decenas de antígenos, de los cuales, los siguientes C , c , D, E y e son los que se manejan rutinariamente . Los antígenos -- del sistema Rh-Hr poseen un complejo mosaico antigénico cuya información genética está presente en el cromosoma 1 (15) .

El sistema Rh-Hr posee los siguientes antígenos: D, (le confiere la característica de ser Rh positivo) , C , c , E , e y C^W que se encuentran estrechamente ligados en el mismo cromosoma , se ha demostrado su herencia mendeliana dominante simple esto significa que para cualquier combinación de un antígeno - dado, por ejemplo : el CDe en la sangre de un sujeto debe de estar presente en cualquiera de sus padres (15) .

Las nomenclaturas más comunes que se emplean para deno-

minar los antígenos de este sistema son las siguientes: la de Fisher y Race que emplea la combinación de letras CcDDEe y la de Wiener que utiliza letras como R y r .

La teoría de Wiener señala que estas substancias se heredan a partir de un solo gen , y la de Fisher que son tres genes estrechamente ligados .

Los ocho grupos del sistema Rh-Hr se identifican con antisueros de especificidad: anti-C (anti-rh'), anti-c (anti-Hr') anti-D (Rho) , anti-E (anti-rh'') y anti-e (anti-hr'') .

De la siguiente manera :

Aglutinógeno Antígeno-Comp. anti-C anti-E anti-D anti-c anti-e

Wiener	Fisher-Race	antirh'	entirh''	entirho	antihr'	antihr''
Rho	cDe	-	-	+	+	+
Rh ₁	CDe	+	-	+	-	+
Rh ₂	cDE	-	+	+	+	-
Rhz	CDE	+	+	+	-	-
rh	cde	-	-	-	+	+
rh'	Cde	+	-	-	-	+
rh''	cdE	-	+	-	+	-
rhy	CdE	+	+	-	-	-

La frecuencia fenotípica de este grupo sanguíneo en el Valle de México es la siguiente (26) .

Grupo sanguíneo	Por ciento
R ₁ R ₁	26.77
R ₂ R ₂	6.93

Grupo sanguíneo	Por ciento
R_1r	17.73
R_1R_2	25.07
R_2r	7.05
Ror	1.56
rr	2.64
$r'r$	0.16
$r''r$	0.16

En la información anterior no se ajusta el 100% , ya - que se excluyeron grupos del sistema Rh-Hr para poder efectuar la comparación con la información siguiente .

A diferencia de otras poblaciones como la Europea del Oeste en la que se encuentra (15) .

Grupo sanguíneo	Por ciento
R_1R_1	18
R_2R_2	3
R_1r	33
R_1R_2	14
R_2r	13
Ror	2
rr	15
$r'r$	0.37
$r''r$	0.23

Los anticuerpos de los grupos sanguíneos , principalmente del sistema ABO , son inmunoglobulinas del tipo IgM e IgG . Son anticuerpos regulares , se encuentran en el suero y su presencia no fué originada por la estimulación de un antígeno específico . Estos anticuerpos pueden pertenecer a varios sistemas de grupo sanguíneo , pero su frecuencia es variable .

De esta manera , el grupo sanguíneo eritrocitario "A" tiene su anticuerpo regular correspondiente que es el anti-B , el grupo "B" el anticuerpo antitético anti-A , el grupo "AB" no posee anticuerpos antitéticos y el grupo "O" tiene anti-A,B

Sin embargo , existen anticuerpos de grupo sanguíneo -- llamados "inmunes" , que se forman como respuesta a la presencia de un antígeno extraño en los individuos inmunológicamente competentes , como puede ocurrir en las transfusiones sanguíneas .

Características físicas y químicas de las Inmunoglobulinas IgM e IgG .		
	IgM	IgG
Peso molecular	900,000	150,000
Tipo de anticuerpo	aglutinina	incompleto
Efecto de la Temp.	lábil	estable

Interacción antígeno-anticuerpo:

La reacción que se lleva a cabo durante la interacción -

antígeno-anticuerpo ocurre en dos fases . En la fase inicial - ocurre la combinación de los reactantes ; esta etapa se lleva a cabo instantáneamente y en la mayoría de los casos no es visible . Sin embargo , es en esta fase donde ocurre el mayor cambio de energía libre . En la segunda etapa de la reacción ocurre la agregación de los complejos antígeno-anticuerpo haciéndose visible ; esta fase lleva mas tiempo que la anterior requiere de electrolitos y casi no implica un cambio de energía libre (18) .

De los estudios hechos sobre la reacción antígeno-anticuerpo , uno de los aspectos mas relevantes ha sido su alta especificidad , así como la relación entre la composición química y la especificidad inmunológica de ciertos antígenos desconocidos . (22) .

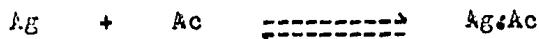
Son de gran importancia los factores que intervienen en la observación de la reacción antígeno-anticuerpo y que se engloban en los siguientes aspectos:

a) Aspectos fisicoquímicos :

La reacción antígeno-anticuerpo es reversible y obedece a la Ley de Acción de Masas , la cual establece " la velocidad de reacción es proporcional a las masas activas de las sustancias reaccionantes " .

Existen varios tipos de unión implicados en la reacción antígeno-anticuerpo ; los mas importantes son la unión electrostática , las fuerzas de Van der Waals , la ---

fuerza no polar e hidrófobica y el puente de hidrógeno .
 La reacción siguiente describe la unión antígeno-anticuerpo



donde Ag es el antígeno y Ac el anticuerpo ; Ag:Ac es el --
 complejo formado por la unión antígeno-anticuerpo .

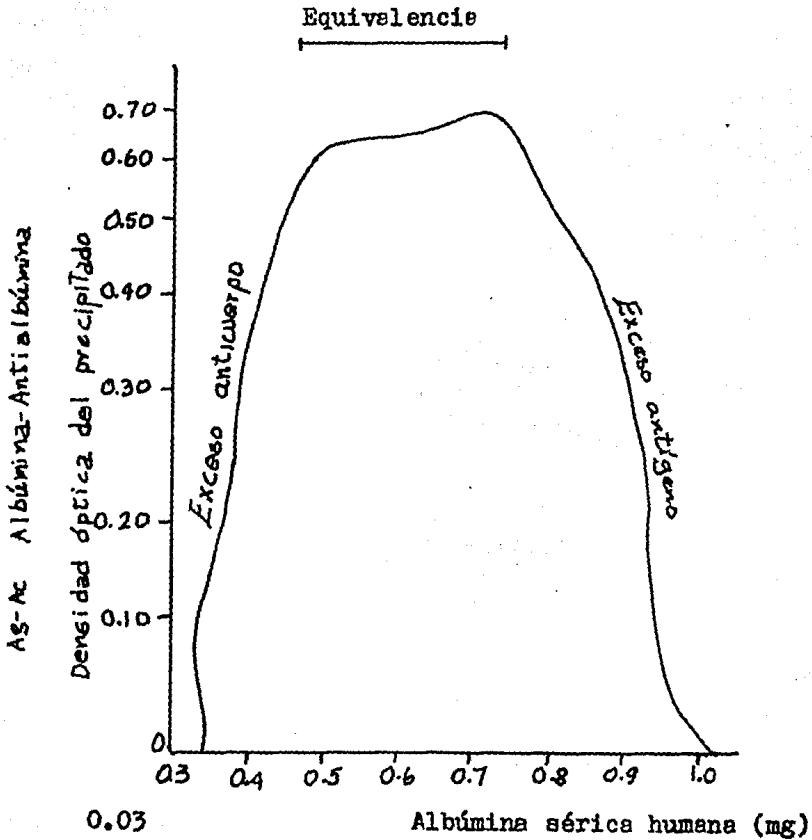
$$K_{eq} = \frac{Ag:Ac}{[Ag][Ac]} = \frac{K_1}{K_2}$$

donde K_1 es la constante de asociación y la K_2 es la cons--
 tante de disociación , que asociadas a los reactivos y pro--
 ducto , da la reacción para la constante de equilibrio .

Por lo que , la agregación depende de la concentra--
 ción de reactivos relativa para cada uno , el medio de rea--
 ción y el tiempo . Bajo condiciones óptimas , la expresión
 de estas interacciones usualmente serían representadas como
 una curva stender en forma de campana , como en la figura
 siguiente . Cuando todo el antígeno y todo el anticuerpo -
 están consumidos en la formación del agregado , la reacción
 se señala como en la "zona de equivalencia" . Cuando hay un
 exceso de anticuerpo con respecto a la concentración del an--
 tígeno la agregación es limitada y no es visible , señalan--
 dose como "zona de exceso de anticuerpo o prozona" . El re--
 sultado es un número muy pequeño de agregados poco visibles
 Sucediendo lo mismo , cuando hay un exceso de antígeno con

respecto al anticuerpo , la agregación es limitada y no se observa denominándose "zona de exceso de antígeno o post-zona" (18 ,19) .

Unión antígeno-anticuerpo como una función de la concentración de los reactivos .



pH :

Este factor está involucrado en la reacción antígeno-anticuerpo ya que modifica la estructura primaria de una proteína , logrando el punto isoeléctrico de esta . El punto isoeléctrico , es el pH en el cual una proteína no migra en un campo eléctrico , ya que al llegar a él se precipita .

Hay diferentes puntos isoeléctricos , el correspondiente a las gamma globulinas se encuentra entre el pH 5.6 y 7.3 con una media de 6,7 . Y es entre estos valores que las fuerzas de repulsión electrostáticas son mínimas , por lo que , - las moléculas de anticuerpo deben hallarse ligeramente ionizadas , para que la reacción antígeno-anticuerpo ocurra (19) .

Temperatura:

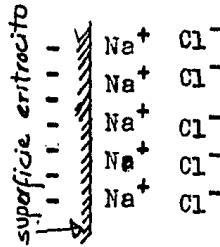
Para tener un claro entendimiento del efecto de la temperatura sobre la reacción antígeno-anticuerpo debe mencionarse el postulado de Le Chatelier , el cual establece "si se impone a un sistema en equilibrio , un cambio de condiciones , el sistema sufre un reajuste para anular o contrarrestar el efecto del cambio " . Y sabiendo que la reacción antígeno-anticuerpo es del tipo exotérmico , se sabe de antemano , que un aumento en la temperatura favorecerá la disociación del complejo antígeno-anticuerpo , y a su vez una disminución en la unión entre el antígeno y el anticuerpo , pues están involucrados también la K_1 y la K_2 constantes de asociación y disociación respectivamente ; por eso se han determinado tempera-

turas adecuadas para los diferentes antígenos , para utilizarlos en su disociación .

Al igual que el pH , hay un rango de temperatura en el cual las inmunoglobulinas tiene una actividad óptima , variando de acuerdo a su naturaleza química , por ejemplo: la mayoría de los anticuerpos inmunes antieritrocitario -- reaccionan mejor a 37°C , anticuerpos del sistema Rh-Hr . En cambio , con las aglutininas de clase Igm como las del sistema ABO , su temperatura óptima es desde 4°C hasta -- 21°C : por datos experimentales , se sabe que un aumento mas allá de los 37°C hasta los 56°C induce a la reversibilidad total de la reacción antígeno-anticuerpo , obteniendo el anticuerpo en forma libre (19) .

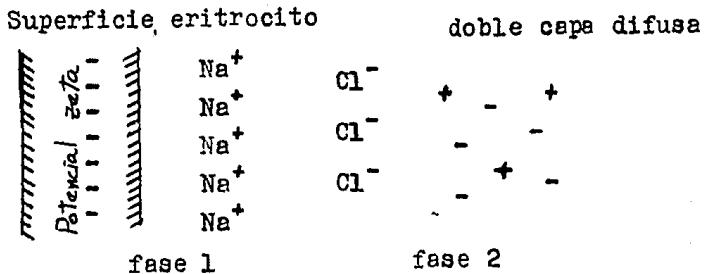
Potencial zeta:

Para entender la formación de este potencial , se utiliza el comportamiento del eritrocito en medio salino;-- al entrar en contacto el eritrocito con la solución de cloruro de sodio al 0.9% , los iones sodio son atraídos al -- eritrocito , pues este en su superficie posee una carga negativamente negativa . A su vez al neutralizar esta carga que ha quedado positiva , los iones Cl⁻ son atraídos formando una doble capa de cargas como en la siguiente figura , llamado modelo de HELMOLTZ .



Después de investigaciones se ha pensado que existe una carga fija sobre la superficie del eritrocito con algunas cargas compensadoras . Mientras hay otras cargas restantes distribuidas a través del electrolito , cercano a la primera carga en forma difusa y móvil . Esta acarrea una pérdida de potencial entre la superficie y el líquido que las rodea , ocurriendo en dos fases .

1.- entre la superficie y la capa estacionaria y 2.- entre la capa estacionaria y el resto de la solución . Siendo esta última el llamado POTENCIAL ZETA , involucrado en las interfases líquido-sólido .



El potencial zeta depende de la densidad de carga neta de la superficie del eritrocito , así como de la constante dieléctrica y la fuerza iónica del medio , a parte de este potencial que determina las fuerzas de repulsión -

que eviten la unión entre células , las inmunoglobulinas - involucradas son la IgM que por su tamaño molecular es suficiente para permitir la unión de los eritrocitos entre su distancia mínima . Para la IgG debido a que su tamaño molecular es menor, la hemaglutinación no se realiza hasta que no se abte el potencial zeta (carga electronegativa que se origina de la repulsión célula-célula) tratandolo con enzimas proteolíticas o albúmina bovina . Otro factor relacionado es la posición del antígeno en el estroma eritrocitario , por ejemplo: que se encuentre en cresta o en valle.

Uno de los componentes mas utilizados debido a su eficacia es la albúmina sérica bovina , ya que incrementa la constante dieléctrica y disminuye el potencial zeta del medio . La acción de la albúmina bovina sobre el potencial zeta es neutralizar los iones sodio del medio , con lo que -- disminuye su unión con el eritrocito y afecta la interfase eritrocito-medio de suspensión y por consiguiente las fuerzas de repulsión eritrocitarias . Lo anterior debido a la formación de albuminato de sodio , que le da al medio una constante dieléctrica elevada (20 , 21) .

En la tipificación de grupo sanguíneo eritrocitario se prefiere la prueba de aglutinación directa en sangre fresca ; pero se ha probado que este no es posible para la detección de antígenos celulares en las manchas de sangre seca , ya que los eritrocitos están destruidos e diferencia de las manchas de -

otros fluidos corporales donde la substancia de grupo es soluble . Para las manchas de sangre seca se utilizan los métodos de absorción-inhibición y absorción-elución .

Los antígenos de grupo sanguíneo y otros caracteres polimórficos asociados con los eritrocitos se deterioran en las manchas a diferentes velocidades , y también hay una amplia variación debida a las condiciones a las que las manchas están expuestas antes de ser analizadas . La reactividad de las manchas puede disminuir dentro de unos pocos dias a algunos años . Los antígenos del sistema ABO son particularmente estables en relación al tiempo , hay autores que han publicado -- que manchas de sangre en el suelo han podido ser tipificadas después de 14 años (23) .

Las manchas que se secan mas rápidamente retienen su actividad por períodos mas largos , que aquellas que permanecen en un ambiente húmedo , ya que las bacterias pululen en la humedad y su actividad puede dar falsos positivos o falsos negativos .

Los antígenos MN son los que siguen en actividad a los antígenos AB aunque duren algunos meses . Todos los antígenos del sistema Rh-Hr , S , s y Kell son detectados después de muchos meses y el Rh puede ser detectado hasta dos años después , cuando son expuestos a la luz solar.

Las ciencias forenses tratan muy a menudo con problemas de identidad . Los grupos sanguíneos son excelente ayuda para estos fines , sin embargo , ellos no demuestran una identidad positive . No se puede decir , este mancha de sangre proviene de este persona , pero definitivamente , pueden demostrar la "no identidad" ; por ejemplo: esta mancha de sangre no pertenece a esta persona .

Sin embargo , gracias al vasto polimorfismo de los grupos sanguíneos que se emplean actualmente en problemas forenses , es posible contribuir de una manera importante (aunque no concluyente) con evidencia sobre el origen de las manchas de sangre .

Los antígenos eritrocitarios como el A , B , H , M , N S , s , D , E , C , c , e , C^w , Kell , PK^a , Fy^a y Fy^b , se han detectado con buenos resultados con las técnicas de absorción-elución . Desde 1960 hasta la fecha los siguientes investigadores han creado y modificado técnicas de absorción-elución . Kind 1960 ; Nicholls y Pereira 1962 ; Pereira 1965 ; Bargagna y Pereira 1967 ; Lincoln y Dodd 1968 ; Fiori , Marigo y Belciolmi 1963 ; Douglas 1969 ; Lincoln y Dodd 1973 ; Lincoln y Dodd 1975 ; P.K. Chatterji 1977 y P.D. Martin 1977 .

Antes de efectuar la tipificación de grupo sanguíneo se realiza una investigación sobre la mancha .

METODOLOGIA GENERAL EN LA INVESTIGACION CRIMINALISTICA DE LAS MANCHAS DE SANGRE .

- 1.- Pruebas de orientación .
 - a) Reacción de la Bencidina .
 - b) Reacción de la Fenolftaleína reducida .
 - c) Reacción de la Leuco Malaquita verde .
- 2.- Pruebas de confirmación .
 - a) Cristales de Hemina .
 - b) Cristales de Hemocromógeno .
- 3.- Pruebas para determinar el origen de la mancha.
 - a) Reacción de las precipitinas en capilar .
 - b) Inmunolectroforesis .
- 4.- Determinación del grupo sanguíneo .
 - a) En sangre fresca .
 - b) En manchas de sangre .

1.- Pruebas de identificación de sangre .

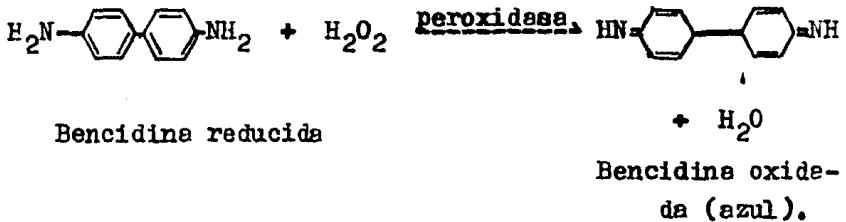
- a) Prueba de la Bencidina o de ADLER .

Fundamento químico:

La sangre posee unas enzimas llamadas peroxidases o catalasas que intervienen en las reacciones de oxidación pues tienen la propiedad de descomponer el peróxido de hidrógeno u otros peróxidos orgánicos , liberando radicales hidróxilo , como en la siguiente reacción .



La catalase al descomponer el peróxido de hidrógeno libera radicales hidróxilo , que reaccionan con la bencidina , oxidándola y se forma un compuesto intensamente azul .



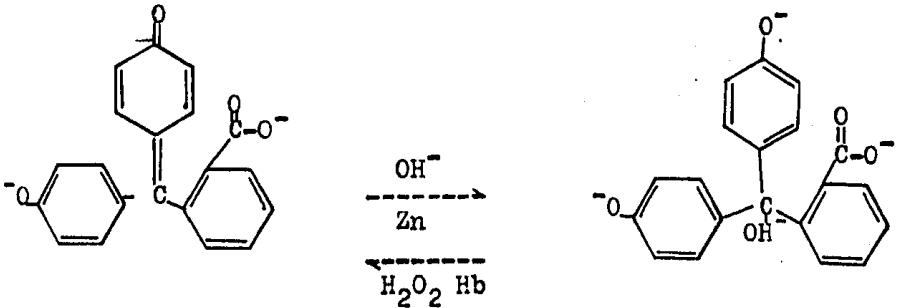
La oxidación de la Bencidina es utilizada como prueba presuntiva para la identificación de sangre , teniendo una sensibilidad de 1:300,000 a 1:500,000 .

Si la prueba da un resultado negativo , se excluye la presencia de sangre ; pero si es positivo , entonces se continuará con las pruebas de confirmación .

b) Prueba de la Fenolftaleína o de Kastle Meyer .

Fundamento químico .

En el caso de la Fenolftaleína , aunque la rige el mismo principio de la Bencidina , debe de ser reducida previamente a fenolftaleína incolora , Trabajar en medio alcalino , en vez de medio ácido , calentando a 100°C - por un minuto .



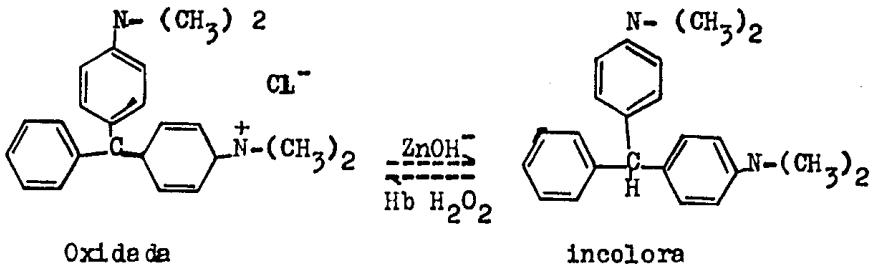
c) Prueba de la Leuco Malaquita verde .

Se ha confirmado que el calentamiento inactiva la peroxidasa vegetal , las peroxidases animales permanecen estables , También las peroxidases vegetales son inactivadas en medio ácido , por lo cual se trabaja en medio alcalino . La sensibilidad de esta prueba es mayor que la anterior 1:1,000 000 a 1:10, 000 000.

c) Prueba de la Leuco Malaquita Verde .

Fundamento químico:

Se basa en una reacción de oxidación y reducción , y al igual que la fenolftaleína debe de estar en su forma reducida incolora .



La forma reducida de la Malaquita verde , puede ser oxidada por la acción de las peroxidases para

dar la forma oxidada verde . Esta prueba fué reportada por Hunt quien señala que la encontró mas confiable para sangre , aunque sea menos sensible que la Bencidina .

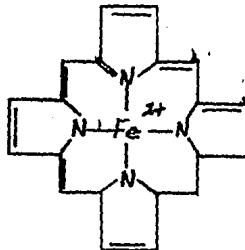
Esta prueba es igual que la de la fenolftaleína o de Kastle Meyer , sólo al dar resultado positivo , se continúe con las pruebas de confirmación .

2.- Pruebas de confirmación .

a) Cristales de Hemina o de Teichmann .

Fundamento químico:

Se basa en la desnaturalización de las proteínas (globulinas) para dejar libre a la hemoglobina . El hierro -- del grupo Heme se oxida en presencia de un halógeno inorgánico como es el cloro , en un medio ácido ; formándose cristales insolubles de cloruro de ferroporfirina o Hemina .



b) Cristales de hemocromógeno o de Takayama .

Fundamento químico:

La combinación entre la ferro y ferriprotoporfirina con compuestos nitrogenados da como resultado hemocromógenos . Los cristales pueden formarse tanto en medio áci-

do como alcalino ; el de Takeyama es en medio alcalino.



3.- Pruebas para determinación del origen de la sangre .

A) Reacción de las precipitinas en capilar.

Fundamento químico:

Se basa en una reacción antígeno-anticuerpo formándose un precipitado fácilmente visible . Para esto es necesario que las concentraciones de ambos reactantes sean equivalentes . Un exceso de alguno de los dos, producirá un resultado falsamente negativo .

La técnica en capilar o en tubo , es rápida y sencilla , pero es necesario tener una muestra clara . Hay varios factores que afectan la reacción de precipitinas , ejemplo: la edad de la muestra , condiciones ambientales , el grado de putrefacción y la contaminación con compuestos químicos tales como detergentes .

b) Técnica de Inmunolectroforesis .

Fundamento químico .

Se basa en una reacción antígeno-anticuerpo en un medio electroforético . El antígeno migra hacia el ánodo y el anticuerpo al cátodo . En el sitio de unión de los reactantes aparecerá un precipitado .

4.- Determinación de grupo sanguíneo en sangre fresca.

La sangre fresca se prepara en una suspensión con solución salina al 2%. Y se hace reaccionar con los diferentes antisueros como son: anti-A , anti-B , anti-AB , -- anti-D , anti-E , anti-C , anti-c , anti-e . Se centrifuga y se lee la aglutinación . Ejemplo : Prueba directa .

anti-A	anti-AB	anti-B	Para sistema ABO		
+	+	-	Grupo A		
anti-E	anti-C	anti-D	anti-c	anti-e	Para sistema Rh-Hr
+	+	+	+	+	Es R ₁ R ₂

Resumén de las técnicas empleadas desde 1960 para tipificación de grupos sanguíneos del sistema ABO y Rh-Hr en manchas de sangre seca, y en las cuales se ha tratado de resaltar los tiempos de incubación y el lavado del exceso de anticuerpo factores diferentes a la técnica que se ha diseñado.

Actualmente las técnicas que se emplean para la determinación de grupo sanguíneo ABO y Rho (D) son macro y microtécnicas , en las primeras se emplean aproximadamente un cm. cuadrado de tela manchada de sangre , en la segunda una area no mayor de tres mm. cuadrados .

El tiempo de incubación de la mancha de sangre con los antisueros conocidos es generalmente de 16 hrs y el lavado de exceso de anticuerpo se hace con la técnica de centrifugación en tubo .

Se sabe que la formación del complejo antígeno-anticuerpo describe una curva con respecto al tiempo de reacción y es con esta se determina el tiempo óptimo de reacción . El tiempo descrito como óptimo en los trabajos mencionados va desde una hora y media hasta veinte horas .

También se sabe que lavar el complejo antígeno-anticuerpo para liberarlo del anticuerpo libre , debe de hacerse con sumo cuidado dado que la falta o exceso de centrifugación pueden alterar la unión antígeno-anticuerpo . De hecho cualquier manipulación excesiva de centrifugación modificará el complejo .

Kind en Febrero de 1960 diseña la siguiente técnica en portaobjetos ; se prepare un frotis de sangre de cinco a diez microlitros por cm. cuadrado. Se seca la muestra , se fija con un smortiguador de 7.4 a 100°C por un segundo , se seca y se divide en secciones tantas como el número de antisueros a probar . A cada sección se le agrega un antisuero , se pone en cámara húmeda a temperatura ambiente y se agita suavemente durante tres horas. Se lava en frío y se seca, después se agrega una gota de glóbulos rojos al 2% y se lleva a 50°C por cinco minutos , se seca y se pone a temperatura ambiente y se lee aglutinación en aquellas secciones donde el antisuero ha sido eluido .

En Agosto del mismo año , Kind emplea fragmentos de telamechada de sangre . Un fragmento de tela de diez mm. cuadrados -

se mete en un amortiguador de pH 7.4 por treinta segundos en ebullición . Se saca y se pone antisueros a cada uno de los fragmentos durante dos horas . Se lava tres veces con solución salina y cada una de las telas se colocan en placas excavadas de doce mm. de diámetro , se cubre con treinta microlitros de células correspondientes al 2% ; se ponen en cámaras húmedas de 50-55°C por cinco minutos . Se saca la placa y se rote vigorosamente , se secan los fragmentos de la placa y se lee el botón que queda en las cavidades .

Nicholls y Pereire en 1962 , utilizan manchas de sangre en papel filtro o en tela de algodón , o costras de sangre , La edad varía de pocos minutos a varios años . El resultado fué excelente , ya que de 224 muestras , 143 fueron tipificadas . El mas alto porcentaje fué del 78% (10) .

Outteridge R.A. empleaba una fibre de material manchado de uno a dos mm. de largo , se desbarataba la tela con pinzas para la obtención de fibras ; se pegaba cada una de las fibras en el centro de tres pozos en una lámina excavada de una pulgada por tres pulgadas . Poner estas fibras a secar a 50°C , agregaba el antisuero hasta que la fibre quedaba completamente llena de anticuerpo . Se ponía una hora a temperatura ambiente en cámara húmeda , después se dejaba a 4°C por media hora y se lavaban las telas en los pozos con solución salina , se agregaba salina en cada pozo por diez minutos y se repetía la operación, se retiraba la salina y se sacaba el papel filtro .

Se agregaban las células al 0.1% en la placa precalentada de 50 - 55°C por diez a doce minutos , se rotaban , permitiendo que se enfriarían antes de leer la aglutinación de diez a quince minutos (11) .

Técnica de microelución para la detección de antígenos en manchas .

La tela manchada de sangre (ejemplo: dos mm. de fibra para el sistema ABO y dos mm. cuadrados para el sistema Rh-Hr) se colocan en tubos de plástico de seis por un centimetro . Agregar dos volúmenes (aprox. 0.06 ml) de la dilución apropiada de anti-suero a cada tubo , se tapan los tubos e incuban a temperatura apropiada (ejemplo: 4°C para el sistema ABO y 37°C para el sistema Rh-Hr) generalmente por 16 horas .

Después de la incubación el suero se elimina de cada tubo las fibras y cuadros de tela se lavan cinco veces con solución salina fría . Todos los tubos se dejan a 4°C durante este lavado, en el último lavado se utiliza albúmina sérica bovina diluida -- 1:100 en salina , este proceso de lavado necesita de tres horas . En cada lavado eliminar tanto líquido como sea posible .

Técnica utilizada en la Procuraduría General .

En la Procuraduría General del D.F. se lleva a cabo la técnica de absorción-elución en tubo ; el tiempo de reacción en

tre el material manchado y los antisueros es proxímadamente de 16 hrs ; después se procede al lavado del anticuerpo remanente con solución salina fría , tantas veces como sea necesario , - para que la solución se obtenga incolora . Se añaden células indicadoras correspondientes a cada tubo al 2% y se lee aglutinación macrósopica o microscópica .

IV .- Material y Métodos .

De las labores en el Banco de Sangre de Centro Médico Nacional está la asesoría en problemas que implican reacciones antígeno-anticuerpo de elementos sanguíneos en sangre fresca y seca , por lo que es de su competencia -- disponer de técnicas accesibles para investigar problemas en esas muestras . La técnica empleada , es una microtécnica , en la que se emplean manchas de sangre seca bajo - control de temperatura , humedad , luz solar y tiempo , - empleandose como testigos conocidos . Se han estudiado -- hasta la fecha doscientas muestras de sangre seca , de -- grupo sanguíneo ABO y Rh-Hr . Han sido estudiados por la Q.F.B. Elise Quintanar de Rodríguez y personal a su cargo.

Microtécnica empleada en el Banco de Sangre de Centro Médico Nacional.

Con ayuda de pinzas se corten cuadros de tres mm. - por lado y se coloquen dentro de tubos de ensayo de 12X75 mm. se les agrega a cada tubo dos volúmenes del antisuero corres

pondiente a título óptimo y se colocan para el sistema ABO a 4°C por 16 horas y para el sistema Rh-Hr a 37°C por el mismo período de tiempo . Para eliminar el exceso de anticuerpo se lavan los tubos de la siguiente manera : se llena hasta el borde el tubo con solución salina fría , centrifugando en cada lavado y desechando la solución salina, diez lavados mínimo . La elución se lleva a cabo para el sistema ABO a 56°C por diez minutos y para el sistema Rh-Hr a la misma temperatura por veinte minutos . Se añaden las células indicadoras correspondientes y se lee aglutinación al microscopio .

Para la técnica de este trabajo experimental se hicieron doscientos pedazos de tela de algodón y sintéticas con sangre de grupo conocido , se dejaron secar y se colocaron dentro de tubos de ensayo de 13X100 mm perfectamente limpios y secos ; se rotuló cada tubo con el grupo sanguíneo al que pertenece la sangre y se almacenaron a temperatura ambiente en un desecador .

Material biológico .

- a) Sueros hemoclasificadores anti-A , anti-B , lectina anti-H , anti-D , anti-E , anti-C , anti-c y anti-e .
- b) Albúmina bovina polimerizada (23.6 al 24.2%).
- c) Albúmina bovina al 30% .
- d) Pepsina .

Reactivos y Material de Laboratorio .

- a) Acetona Q.P.
- b) NaCl.
- c) Na_2HPO_4 .
- d) KH_2PO_4 .
- e) Tiras de acetato de celulosa .
- f) Placas de vidrio de 10X15 cm .
- g) Gasa .
- h) Papel encerado .
- i) Papel adhesivo .
- j) Tubos de ensayo de 10 X 75 mm .
- k) Tubos de ensayo de 13 X 100 mm .
- l) Pipetas Pasteur .
- m) Tijeras .
- n) Bulbos de goma .
- o) Pinzas pequeñas .
- p) Gradillas para tubos de 13 X 100 mm .
- q) Cajas para cámara húmeda .

Equipo .

- a) Baño maría .
- b) Centrifuga (Serofuge) .
- c) Estufa a temperatura constante (37°C) .
- d) Refrigerador .
- e) Microscopio .

Fundamento de la técnica .

La técnica se basa en la reacción antígeno-anticuerpo específica y el despegamiento posterior del anticuerpo para comprobar su especificidad . Esto se lleva a cabo en dos partes : la absorción del anticuerpo y el despegado de éste .

En la primera parte (absorción del anticuerpo) se ponen en contacto el antígeno eritrocitario desconocido (mancha de --sangre) con su anticuerpo específico conocido , lo cual se pone a reaccionar a temperatura óptima de reacción como son: 4°C para los antígenos del sistema Rh-Hr . Después por medio de lavados se retira el anticuerpo remanente .

En la segunda parte , o sea , el despegamiento del anticuerpo se basa en el rompimiento de la unión antígeno-anticuerpo , el cual generalmente se efectúa por medios físicos ; por último se lleva a cabo el estudio de la especificidad de ese anticuerpo despegado con antígenos eritrocitarios específicos conocidos .

Esta última reacción se lee por ausencia o presencia de eglutinados , los que determinan el grado de positividad .

Preparación de reactivos .

1.- Preparación de los antisueros (anticuerpos conocidos) .

Los sueros hemoclasificadores deben de tener una concentración óptima para que la formación del complejo antígeno-anticuerpo pueda ser observada , por lo que , se hicieron diluciones de cada uno de ellos y se probaron con fi---

bras de tela manchada de sangre de grupo conocido y bajo -- control de temperatura y humedad . Secadas a 37°C por diez minutos y de inmediato introducidas a tubos limpios , los cuales se sellaron y almacenaron en un desecador .

Las diluciones óptimas para los sueros del sistema - ABO , fueron las siguientes : lectina anti-H 1/1 sin diluir anti-A 1:4 y anti-B 1:2 . Las diluciones óptimas para los - antisueros del sistema Rh-Hr fueron para anti-D 1:4 , anti-E 1:4 , anti-C 1:3 , anti-c 1:6 y anti-e 1:3 .

Diluciones	1:2	1:4	1:8	1:16
anti-D	---	4+	3+	2+
anti-E	4+	3+	3+	2+
anti-C	3+	2+	+	+
anti-c	4+	4+	3+	3+
anti-e	3+	2+	+	+
anti-A	4+	3-	3+	2+
anti-B	3+	+	+	(+)
lectina anti-H	+	(+)	-	-

4 + = 12 puntos 3 + = 10 puntos 2 + = 8 puntos

+ = 5 puntos (+) = 3 puntos

Los sueros que sumaron 30 puntos se diluyeron 1:4 , los que sumaron 28 puntos se diluyeron 1:3 y el que tuvo -- 44 puntos se diluyó 1:6 .

2.- Preparación de albúmina bovina al 1.5% .

A partir de la albúmina bovina al 30% se hace una dilución 1:20 con solución salina fisiológica , para obtener una concentración al 1.5 % .

3.- Preparación de solución salina al 1% .

Se pese 1 gr. de cloruro de sodio Q.P. se coloque en un matraz aforado de 100 ml. y se afora con agua destilada Se pase a un frasco amber , se rotula y se guarde hasta su uso .

4.- Preparación de papaína/amortiguador de fosfatos .

a) Preparación de amortiguador de fosfatos M/15 .

Se pesan :	Na_2HPO_4	7.09 gr.
	KH_2PO_4	2.27 gr.

se colocan en un matraz aforado de un litro y se afora con agua destilada. El pH final se ajusta a 7.3 .

b) Preparación de papaína al 1% .

Se pesan 250 mg. de papaína y se colocan en un matraz aforado de 25 ml. y se afora con agua destilada. Esta solución se reparte en frascos ampule en alícuotas de un mililitro y se almacenan a -20°C . Se renueva esta solución cada seis semanas .

c) Preparación de papaína/amortiguador de fosfatos .

Un volumen de papaína al 1% se diluye 1:10 con el amortiguador de fosfatos .

5.- Preparación de los eritrocitos con antígenos específicos - conocidos (para el estudio del anticuerpo despegado o eluído) .

a) Para el sistema Rh-Hr .

De 0.1 a 0.2 ml. de paquete de células R_1R_2 de - menos de 24 hrs , se colocan en tubos de ensayo de 13X-100 mm. se les agrega 0.2 a 0.4 ml . respectivamente de la solución de papaína en amortiguador de fosfatos se - mezclan perfectamente y se incuban a $37^{\circ}C$ por quince minutos .

Se lavan con solución salina al 1% , llenando -- hasta el borde el tubo , se repite la acción tres veces centrifugando los tubos a 3,500 r.p.m. por tres minutos Y se resuspenden al 0.5% con solución salina fisiológica.

b) Para el sistema ABO .

Se colocan de 0.1 a 0.2 ml. de paquete de células A_1 , A_2 , B y O en tubos correspondientes , rotulados con su nombre , las células deben de ser de menos de 24 hrs. Se lavan una vez con solución salina fisiológica llenando hasta el borde el tubo y se resuspenden - el 0.5% con solución salina fisiológica .

Preparación del Material .

1.- Preparación de cajas para cámaras húmedas .

Las cajas que se emplean como cámaras húmedas se la

van con agua y jabón , se secan perfectamente y en el fondo se ponen gase húmedas . En la parte inferior de la tapa se coloca una gase limpia y seca , con el fin de evitar que el agua condensada caiga sobre las tiras de acetato de celulosa y placas de vidrio .

2.- Preparación de las placas de vidrio .

Las placas de vidrio se lavan perfectamente con agua y jabón , se secan y desengrasan , colocandolas en un recipiente , el cual contiene una mezcla de alcohol-eter (v/v) durante 10 minutos . Se extraen con pinzas y se colocan en forma vertical sobre una toalla de papel adsorbente y cuando están secas se frotan con una gase limpia , hasta eliminar todo rastro de opacidad .

3.- Preparación del pegamento .

Se soloca una tira de acetato de celulosa de 5X20 cm en un recipiente y se le agrega gota a gota acetona y con un agitador metálico se mezcla hasta obtener una substancia de consistencia semilíquida . Se guarda en un frasco herméticamente cerrado para evitar su desecación.

4.- Preparación de testigos positivos .

Fibras de algodón de aproximadamente 2 cm. de largo se impregnan de sangre de los siguientes grupos sanguíneos A_1 , A_2 , B y O para el sistema ABO ; para el sistema Rh-Hr sera R_1R_2 . Se secan a $37^{\circ}C$ por diez minutos y se coloca

can en tubos de ensayo de 13X100 mm. perfectamente limpios y secos , con el nombre corespondiente a cada grupo ; se -
tapan muy bien se guardan en un desecador .

Métodos de Tipificación .

1.- Para el sistema Rh-Mr .

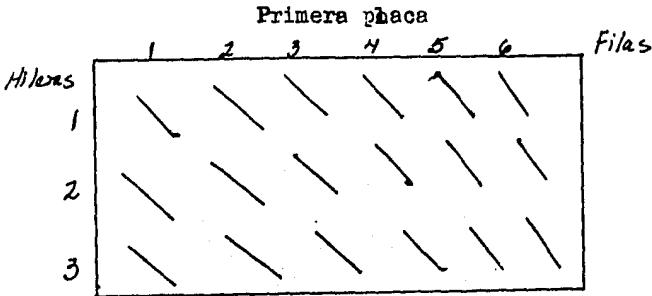
a) Toma y colocación de las muestras .

Se toma el pedazo de tela problema manchada entre dos pinzas , con una se sostiene la tela y con la otra se toman seis fibras de aproximadamente dos cm, - de largo , las cuales se colocan sobre dos placas de vidrio perfectamente limpias y desengrasadas , de la siguiente manera: se toma uno de los extremos de la fibra con la pinza , se coloca en la placa de vidrio y - se pega con una gota del pegamento por uno de sus ex-
tremos .

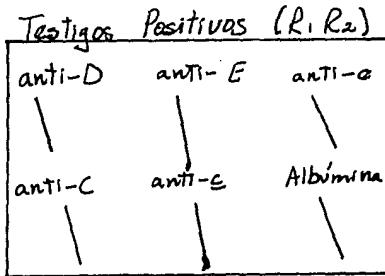
En la primera placa se colocan 18 fibras en 3 -
hileras y 6 files separadas una de otra por aproximada
mente un cm. La cuarta hilera está formada de fibras
de tela problema sin sangre , la cual nos sirve para a
segurar que los antisueros no den un resultado falso -
positivo . En esta placa se estudian tres problemas di
ferentes y sus testigos negativos .

En la otra placa se colocan seis fibras mancha-
das con sangre conocida $R_1 R_2$ (testigo positivo) . El -
ordenamiento de las fibras en las placas se ilustra en

las siguientes figuras .



Segunda placa.



b) Etapa de absorción .

Una vez colocadas las fibras se les agregan dos - gotas del antisuero en la dilución óptima a la file que tiene su nombre ; a la sexta fila se le añaden dos gotas de albúmina bovina polimerizada , procurando que las fibras queden bien impregnadas . Se colocan las placas -- así preparadas dentro de la cámara húmeda y se sellan -

hermeticamente con papel adhesivo . La cámara húmeda se coloca en una estufa a 37°C durante quince a veinte hrs.

c) Lavado del anticuerpo remanente .

Se sacan las placas de vidrio de la cámara húmeda y se colocan cuidadosamente en un recipiente que contiene solución salina a 4°C hasta cubrir las placas. Con aproximadamente cinco movimientos oscilatorios muy suaves se lavan las placas de vidrio de diez a quince veces , - descartando esta solución con mucho cuidado hasta que la solución salina se obtenga incolora.

d) Secado de las placas .

Se colocan las placas ya lavadas sobre una gasa - seca y se presionan muy cuidadosamente con un papel filtro de manera que las fibras queden casi secas .

e) Despegamiento o elución del anticuerpo .

Se rotulan tubos de ensayo de 10x75 mm. tantos como fibras se tienen en las placas , con el número del problema y el antisuero correspondiente , se cortan las fibras de las placas con ayuda de pinzas y tijeras pasando a los tubos de ensayo y se les agrega a cada uno - de los tubos de ensayo una gota de albúmina bovina al 1.5 % . Se tapan perfectamente con papel encerado y se colocan en un baño de agua a 60°C por veinte minutos . Durante este tiempo se agitan muy suavemente tres veces, al cabo de este tiempo se retiran del baño .

f) Especificidad del anticuerpo despegado .

A todos los tubos se les agrega una gota de las células invidadoras R_1R_2 tratadas con papaína , se colo- can a $37^{\circ}C$ durante una o dos horas . Se centrifugan a - 1,500 rpm por un minuto . Con una pipeta Pasteur se ob- tiene el botón de eritrocitos y cuidadosamente se colo- ca sobre un portaobjetos , tratando de extender la sus- pensión sin desbaratar los aglutinados . Se lee al mi- croscoio anotando la positividad o negatividad de la - reacción ; ejemplo :

anti-D	anti-E	anti-C	anti-c	anti-e
+	-	+	-	+

la muestra es: Rho (D) = R_1R_1

CONTROL DE CALIDAD:

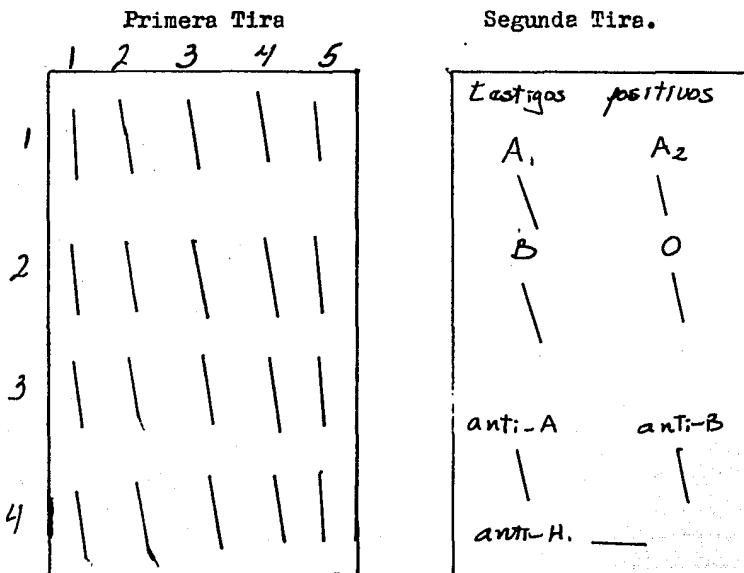
Los testigos positivos R_1R_2 deben de ser claramente po- sitivos , estas fibras se renuevan cada dos semanas . Las células R_1R_2 se utilizan como testigos positivos , ya que poseen antígenos en "dosis simples". Se ha de- mostrado que es de cuatro a ocho veces mas la diferen- cia de eglutinación entre "dosis simples" y "dosis do- bles" . Lo que nos ayuda a comprobar la eficacia de l- los antisueros con los testigos positivos .

2.- Para el sistema ABC .

a) Tome y colocación de las muestras .

Se tome el pedazo de tela manchada de sangre entre dos pinzas , con una se sostiene la tela y con la otra se toman cinco fibras de aprox. dos cm. de largo y se colocan sobre las dos tiras de acetato de celulosa , pegandose por un lado con una gota del pegamento .

En la primera se colocan 25 fibras en 5 hileras y 4 filas , separadas una de otra por aprox. un cm. como indica la figura siguiente , en la parte inferior de la tira se colocan los testigos negativos de los problemas . En la segunda tira se estudian los testigos positivos A_1 , A_2 , B y O. Y los testigos de los antisueros .



b) Etapa de absorción.

En esta etapa se le agregan a las fibras manchadas dos gotas de antisuero a la dilución óptima , para que se lleve a cabo la reacción antígeno-anticuerpo . Se colocan las tiras de acetato de celulosa ya preparadas en la cámara húmeda , sellando ésta con papel adhesivo y se coloca en un refrigerador a 4°C durante dieciocho a veinte horas.

c) Levado del anticuerpo remanente .

Se sacan las tiras de acetato de celulosa de la cámara húmeda y se colocan cuidadosamente en un recipiente que contiene suficiente solución salina a 4°C para cubrir las placas .

Con aproximadamente cinco movimientos oscilatorios muy suaves se levantan las tiras de diez a quince veces con solución salina fría con mucho cuidado se repite la operación hasta que la solución salina se obtenga incolora .

d) Secado de las tiras de acetato de celulosa .

Se colocan las tiras de acetato de celulosa sobre una gasa seca se presiona muy suavemente con un papel filtro de manera que las fibras queden casi secas .

e) Despegamiento o elución del anticuerpo .

Se rotulan tubos de ensayo de 10x75 mm. tantos como fibras se tengan en las tiras , con el número del problema y el antisuero correspondiente se cortan las fibras con ayuda de pinzas y tijeras pasándolas a los tu--

bos de ensayo , se les agrega una gota de solución salina fisiológica , se tapan los tubos perfectamente con papel encerado y se colocan estos tubos en baño de agua a 56°C por diez minutos .

Durante este tiempo se agitan suavemente los tubos por tres veces , después de este tiempo se retiren los tubos del baño y se colocan en un agitador mecánico a sesenta rpm . por quince minutos .

f) Especificidad del anticuerpo despegado .

A todos, los tubos de la fila A₁ se les agrega una gota de la solución de eritrocitos conocidos A₁ al 0.5%, así respectivamente a los de la fila A₂ , B y O.

Se centrifugan a 1,500 rpm por un minuto ; con una pipeta Pasteur se obtiene el botón de eritrocitos y cuidadosamente se coloca sobre un portaobjetos , tratando de extender la suspensión sin desbaratar los aglutinados . Se lee al microscopio anotando la positividad o negatividad de la reacción ; ejemplo: con las siguientes células indicadoras .

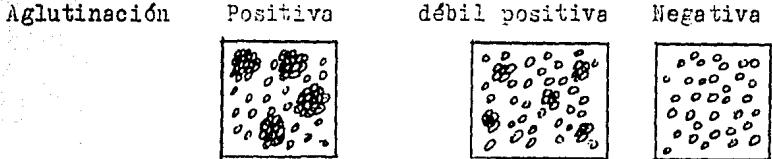
A ₁	A ₂	B	O	
+	-	-	-	es: A ₁

CONTROL DE CALIDAD:

Los testigos negativos deben de no presentar aglutinación.

Los testigos positivos , deben de ser claramente -

positivos , presentando una aglutinación clara y definida ,
estos testigos se deben preparar cada dos semanas con células A₁ , A₂ , B y O de menos de 24 hrs.



Método de absorción-elución empleado en la Procuraduría
General del D.F.

Preparación de antisueros .

Los sueros anti-A y anti-B se diluyen 1:10 con buffer de -
salina . Este buffer se prepara de la siguiente manera :

- | | | |
|-----------|---------------------------|-----------|
| A) 1/15 M | Na_2HPO_4 | 9.47 g/Lt |
| B) 1/15 M | KH_2PO_4 | 9.08 g/Lt |

72 ml de la solución A , 28 ml de la solución B y 85 grs de NaCl
se disuelven en un matraz aforado de un litro , añadiendo c.b.p.
de agua destilada y ajustando el pH final a 7.2 .

Preparación de eritrocitos específicos conocidos al 2% .

De células indicadoras O , A₁ y B se hace una suspensión
al 2% con amortiguador de salina.

La lectina anti-H de *Ulex europaeus* se trabaja 1/1 sin -
diluir.

Colocación de las muestras .

Pedazos de tela problema manchada de sangre de aprox. cinco mm. cuadrados , se colocan en tubos de ensayo de 12X75 mm. rotulados con el número del problema y el nombre del anti suero que se les agregará .

Fase de absorción .

Se añaden dos gotas de suero anti-B a los tubos de la fila "B" , respectivamente se hace lo mismo con los otros an tisueros . Se ponen en absorción toda la noche .

Lavado del anticuerpo remanente .

Se centrifugan los tubos y se elimina el sobrenadante; se lavan los tubos seis veces con salina fría . En el último lavado se trata de eliminar todo el líquido que sea posible. Se añaden dos gotas de amortiguador de salina a cada tubo .

Elución p despegamiento del anticuerpo .

Se eluye el anticuerpo absorbido a 56°C por 10 a 16 mi nutos ; con agitación suave durante este período .

Especificidad del anticuerpo despegado .

El eluato se pasa a una placa rotulada debidamente y se añade una gota de suspensión de eritrocitos al 2% de las células indicadores correspondientes .

células A a la fila "A"

células B a la fila "B"

células O a la fila "H"

Se agita suavemente por diez minutos , se leen los re-- sultados microscópicamente . .

V RESULTADOS:

Se presentan los resultados del análisis de sangre seca para los antígenos del sistema ABO y Rh-Hr . Tomando en cuenta principalmente los siguientes factores .

a) Tiempo de detección .

La disminución de detección del antígeno puede ser atribuida a la degradación e innacesibilidad de los sitios antigénicos , lo último ceusado por la contracción - debida a la deshidratación .

Por lo tanto , el número de sitios antigénicos por superficie celular de cada tipo de antígeno llega a ser - un factor importante en la determinación de grupo sanguíneo en manchas de sangre ya envejecidas y puede explicar las diferencias de detección que se encuentran en la literatura .

b) Substrato de la sangre .

El substarto utilizado , por lo menos , en este estudio demuestra su importancia , ya que en telas sintéticas el grado de confiabilidad de la técnica , no es aceptable .

En la literatura , se presenta discordancia con respecto a este factor , pues algunos consideran que no hay variación en cuanto a resultados . Mientras que otros señalan que la composición del substrato; por ejemplo: nylon , que tiene uniones de poliamida los cuales interfieren en la detección .

- c) Como ya se mencionó anteriormente la humedad ayuda a la proliferación bacteriana , esto a su vez provoca una degradación del glóbulo rojo , alterando su determinación

- d) La temperatura junto con la humedad impide la determinación de los marcadores genéticos .

No. de muestra	Anti-A	Anti-B	Anti-H	Blanco	Anti-C	Anti-c	Anti-D	Anti-E	Anti-e	Blanco	Encuentro Sist. ABO	Encuentro Sist. Rh-Hr	Esperado "ABO"	Esper "Rh-Hr"
1	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	AB	-	A	+ _{R1} R1
2	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	AB	+ _{R1} R2	AB	+ _{R1} R2
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	+ _{R2} R2
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	B	+ _{R2} r
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	+ _{R1} R2
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	+ _{R1} R2
7	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	O	+ _{R1} R1	O	+ _{R1} R1
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	+ _{R1} R1
9	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	O	+ _{R1} R1	O	+ _{R1} R1
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	+ _{R2} R2
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	B	+ _{R1} R2
12	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	AB	+ _{R1} R2	AB	+ _{R1} R2
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	+ _{R1} R1
14	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	A	+ _{R1} R1	A	+ _{R1} R1
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	B	+ _{P1} R1
16	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	O	-	A	+ _{R1} R1
17	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	A	+ _{R2} r	A	+ _{R2} r
18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	+ _{R1} R2
19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	+ _{R1} R1
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	+ _{P1} R2
21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	+ _{P1} R2
22	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	O	+ _{R1} R2	O	+ _{R1} R2

No. de muestra	Anti-A	Anti-B	Anti-H	Blanco	Anti-C	Anti-c	Anti-D	Anti-E	Anti-e	Blanco	Encontro Sist.ABO	Encontro Sist.Rh-Hr	Esperado "ASO"	Esper "Rh-Hr"
23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	+R ₁ r
24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	+R ₁ R ₁
25	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	A	+R ₁ R ₂	A	+R ₁ R ₂
26	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	0	+R ₁ R ₂	0	+R ₁ R ₂
27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	+R ₁ R ₂
28	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	0	+R ₁ R ₂	0	+R ₁ R ₂
29	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	0	+R ₁ R ₂	0	+R ₁ R ₂
30	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	0	+R ₁ R ₂	0	+R ₁ R ₂
31	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	0	+R ₁ R ₂	0	+R ₁ R ₂
32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	B	+R ₁ R ₂
33	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	0	+R ₁ R ₂	0	+R ₁ R ₂
34	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	0	+R ₁ R ₂	0	+R ₁ R ₂
35	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	+R ₁ R ₁
36	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	+R ₁ R ₁
37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	+R ₁ R ₁
38	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-	0	+R ₂ r	0	+R ₂ r
39	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	+R ₁ R ₂
40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	+R ₁ R ₁
41	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-	0	+R ₂ r	0	+R ₂ r
42	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	+R ₁ R ₂
43	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	+R ₁ R ₁
44	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	+R ₁ R ₂

No. de muestra	Anti-A	Anti-B	Anti-H	Blanco	Anti-C	Anti-c	Anti-D	Anti-E	Anti-e	Blanco	Encuentro Sist. ABO	Encuentro Sist. Rh-Hr	Esperado "ABO"	Esperado "Rh-Hr"
45	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	+ _{R1} r
46	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	+ _{R1} R ₁
47	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	+ _{R1} R ₁
48	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	B	+ _{R1} R ₁
49	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	+ _{R1} R ₂
50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	+ _{R1} R ₁
51	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	+ _{R2} R ₂
52	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	B	+ _{R2} r
53	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	B	+ _{R1} R ₂
54	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	B	+ _{R1} R ₁
55	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	B	+ _{R1} R ₁
56	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	AB	+ _{R1} R ₂
57	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	AB	+ _{R1} R ₂
58	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	+ _{R1} R ₁
59	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+ _{R1} R ₂	A	+ _{R1} R ₂
60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	+ _{R1} R ₂
61	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	+ _{R1} R ₁
62	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	0	+ _{R1} R ₂	O	+ _{R1} R ₂
63	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	0	+ _{R2} R ₂	O	+ _{R2} R ₂
64	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	0	+ _{R2} R ₂	O	+ _{R2} R ₂
65	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	0	+ _{R1} R ₂	O	+ _{R1} R ₂
66	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	0	+ _{R1} R ₂	O	+ _{R1} R ₂

No. de muestra	Anti-A	Anti-B	Anti-H	Blanco	Anti-C	Anti-c	Anti-D	Anti-E	Anti-e	Blanco	Encontro Sist.ABO	Encontro Sist.Rh-ir	Esperado "ABO"	Esperado "Rh-ir"
67	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	+R ₁ R ₂
68	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	+R ₁ R ₂
69	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	+R ₂ R ₂
70	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	+R ₁ R ₁
71	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	+R ₁ R ₁
72	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	+R ₁ R ₁
73	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	+R ₁ R ₂
74	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	B	+R ₁ R ₁
75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	+R ₁ R ₂
76	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	+R ₁ R ₂
77	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	+R ₁ R ₂
78	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	A	+R ₁ R ₁	A	+R ₁ R ₁
79	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	A	+R ₁ R ₂	A	+R ₁ R ₂
80	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	B	+R ₁ R ₂
81	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	AB	+R ₁ P ₂
82	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	A	+R ₁ R ₁	A	+R ₁ R ₁
83	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	+R ₁ R ₂
84	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	+R ₁ R ₂
85	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	+R ₁ R ₂
86	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	+R ₁ R ₂
87	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	B	+R ₁ R ₁

No. de Suestra	Anti-A	Anti-B	Anti-H	Blanco	Anti-C	Anti-c	Anti-D	Anti-E	Anti-e	Blanco	Encontro Sist. ABC	Encontro Sist. Rh-Hr	Esperado "ASO"	Esper "Rh-II:
88	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	+R ₂ R ₂
89	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	A	+R ₁ R ₁	A	+R ₁ R ₁
90	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	+R ₂ R ₂
91	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	A	-rr	A	-r-r
92	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	A	-rr	A	-r-r
93	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	+R ₁ r
94	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	+R ₁ r
95	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	+R ₁ R ₁
96	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-	B	+R ₁ R ₁	B	+R ₁ R ₁
97	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	+R ₁ R ₁
98	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	+R ₁ R ₁
99	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	+R ₁ R ₂
100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	+R ₁ R ₂
101	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	+R ₁ R ₁
102	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	+R ₁ R ₁
103	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	A	+R ₁ R ₁	A	+R ₁ R ₁
104	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	A	+R ₁ R ₂	A	+R ₁ R ₂
105	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	+R ₁ R ₂
106	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	+R ₁ R ₂
107	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	A	+R ₁ R ₂
108	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	A	+R ₁ R ₂	A	+R ₁ R ₂
109	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	A	+R ₁ R ₂

No. de muestra	Anti-A	Anti-B	Anti-H	Blanco	Anti-C	Anti-c	Anti-D	Anti-E	Anti-e	Blanco	Encontro Sist.ABO	Encontro Sist.Rh-Hr	Esperado "ABO"	Esperado "Rh-Hr"
110	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	A	+ _{R₁R₁}	A	+ _{R₁R₁}
111	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	+ _{R₁R₁}
112	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	+ _{R₁R₁}
113	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	+ _{R₁R₁}
114	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	A	+ _{R₁R₂}
115	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	A	+ _{R₁R₂}
116	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	+ _{R₁R₁}
117	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	+ _{R₁R₁}
118	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	+ _{R₁R₁}
119	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	+ _{R₁R₁}
120	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	A	+ _{R₁R₂}
121	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	A	+ _{R₁R₁}
122	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	A	+ _{R₁R₁}	A	+ _{R₁R₁}
123	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	A	+ _{R₁R₁}
124	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	A	+ _{R₁r}
125	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	A	+ _{R₁r}	A	+ _{R₁r}
126	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	A	+ _{R₁R₁}	A	+ _{R₁R₁}
127	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	A	+ _{R₁R₁}	A	+ _{R₁R₁}
128	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	+ _{R₁R₁}
129	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	+ _{R₁R₁}
130	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	A	+ _{R₂R₂}	A	+ _{R₂R₂}
131	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	B	+ _{R₁R₂}	B	+ _{R₁R₂}

No. de muestra	Anti-A	Anti-B	Anti-H	Blanco	Anti-C	Anti-c	Anti-D	Anti-E	Anti-e	Blanco	Encuentro Sist.ABO	Encuentro Sist.Rh-Hr	Esperado "ABO"	Esperado "Rh-Hr"
132	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	B	⁺ R ₁ R ₂	B	⁺ R ₁ R ₂
133	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	B	⁺ R ₁ R ₂	B	⁺ R ₁ R ₂
134	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	B	⁺ R ₂ R ₂
135	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	B	⁺ R ₂ R ₂
136	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	B	⁺ R ₂ R ₂
137	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-	B	⁺ R ₁ R ₁	B	⁺ R ₁ R ₁
138	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-	B	⁺ R ₁ R ₁	B	⁺ R ₁ R ₁
139	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	B	⁺ R ₁ R ₁
140	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-	B	⁺ P ₁ R ₁	B	⁺ R ₁ R ₁
141	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	B	⁺ R ₁ r
142	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	AB	⁺ P ₁ r
143	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	AB	-	AB	⁺ R ₁ r
144	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	AB	-	AB	⁺ R ₁ R ₂
145	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	AB	⁺ P ₁ R ₂
146	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	O	⁺ R ₁ R ₂	O	⁺ R ₁ R ₂
147	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	O	⁺ R ₁ R ₂	O	⁺ P ₁ P ₂
148	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	⁺ R ₁ R ₂
149	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	⁺ R ₁ R ₁
150	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	⁺ R ₁ R ₁
151	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	⁺ R ₂ R ₂
152	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	O	⁺ R ₁ R ₁	O	⁺ P ₁ P ₁
153	-	-	+	-	+	-	+	+	+	-	O	⁺ R ₁ R ₁	O	⁺ P ₁ P ₁

No. de muestra	Anti-A	Anti-B	Anti-H	Blanco	Anti-C	Anti-c	Anti-D	Anti-E	Anti-e	Blanco	Encuentro Sist.ABO	Encuentro Sist.Rh-Hr	Esperado "ABO"	Esper "Rh-Hr"
154	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	+R ₁ R ₁
155	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	0	-	0	+R ₁ R ₁
156	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	0	-	0	+R ₁ R ₁
157	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	0	-	0	+R ₁ P ₁
158	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	0	-	0	+R ₁ R ₂
159	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	+R ₁ R ₁
160	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	+R ₁ R ₁
161	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	0	-	0	+R ₁ R ₂
162	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	+P ₁ P ₁
163	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	0	-	0	+R ₁ R ₁
164	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	+P ₁ R ₁
165	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	0	+R ₂ R ₂	0	+R ₂ P ₂
166	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	+R ₁ R ₂
167	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	0	+R ₁ R ₂	0	+R ₁ R ₂
168	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	0	-	0	+R ₁ R ₁
169	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	0	-	0	+R ₁ R ₁
170	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	+R ₁ r
171	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-	0	+R ₁ r	0	+R ₁ r
172	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	+R ₁ r
173	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	0	+R ₁ R ₂	0	+P ₁ R ₂
174	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	+R ₁ P ₂
175	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	A	+R ₁ R ₁	A	+R ₁ P ₁

No. de muestra	Anti-A	Anti-B	Anti-M	Blanco	Anti-C	Anti-c	Anti-D	Anti-E	Anti-e	Blanco	Encuentro Sist. ABO	Encuentro Sist. Rh-Rr	Esperado "ABO"	Esperado "Rh-Rr"
176	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	A	+R ₁ R ₁
177	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	A	+R ₁ R ₁
178	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	A	+P ₁ P ₁
179	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	A	+P ₁ R ₁
180	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	A	+R ₁ R ₂
181	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	A	+R ₁ P ₂
182	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	+R ₁ R ₁
183	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	A	+R ₁ R ₂	A	+R ₁ R ₂
184	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	+R ₁ R ₂
185	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	+R ₁ R ₂
186	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	O	+R ₁ P ₂
187	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	+R ₁ P ₂
188	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	O	+R ₁ R ₂
189	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	+R ₁ R ₁
190	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+R ₁ R ₁	O	+R ₁ P ₁
191	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	+R ₁ R ₁
192	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	+R ₁ R ₁
193	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	B	+R ₁ R ₂	B	+R ₁ R ₂
194	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-	B	+P ₁ r	B	+R ₁ r
195	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-	B	+R ₁ r	B	+P ₁ r
196	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+P ₁ r	B	+R ₁ r
197	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	AB	-	AB	+R ₁ R ₂

Nome e cognome	Anti-A	Anti-B	Anti-H	Bianco	Anti-C	Anti-c	Anti-D	Anti-E	Anti-e	Bianco	Encontro Sist.ABO	Encontro Sist. Rh-Hr	Esperado "ABO"	Esperado "Rh-Hr"
198	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	AB	+ _{R₁R₂}	AB	+ _{R₁R₂}
199	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	O	+ _{R₁R₁}
200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C	+ _{R₁R₁}

No. de muestra	Anti. anti.	Anti. anti.	Anti. anti.	Testigo	Anti. anti.	Testigo	Grupo encontrado "ABO"	Grupo encontrado "Rh-Hr"	Grupo esperado "ABO"	Grupo esperado "Rh-Hr"				
1	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	O	R ₁ R ₂	O	R ₁ R ₂
2	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	A	R ₁ r
3	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	A	R ₁ R ₂	A	R ₁ R ₂
4	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	O	Ror'	O	R ₂ R ₂
5	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	O	Ror	O	r-r
6	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	O	R ₂ r	O	R ₂ r
7	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	O	Ror	O	R ₁ r
8	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	A	Ro	A	R ₁ R ₂
9	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	O	R ₂ R ₂	O	R ₂ R ₂
10	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	O	Ror	O	Ror
11	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	O	Ro	O	R ₁ R ₂
12	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	A	Ror	A	R ₂ r
13	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-	O	R ₁ r	O	R ₁ r
14	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	O	R ₁ R ₂	O	R ₁ R ₂
15	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	O	R ₁ R ₂	O	R ₁ R ₂
16	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	B	Ro	B	R ₁ R ₂
17	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-	O	R ₁ r	O	R ₁ r
18	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	O	-	O	r-r
19	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	O	r-r	O	r'r
20	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	O	R ₁ R ₁	O	R ₁ R ₁
21	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	O	Ror'	O	R ₁ R ₂

Número muestra	Anti anti	anti anti	Testigo	Anti anti	anti anti	anti anti	anti anti	Testigo	Grupo encontrado "ABO"	Grupo encontrado "Rh-Hr"	Grupo esperado "ABO"	Grupo esperado "Rh-Hr"	
22	+	-	-	+	+	+	-	+	-	A	R ₁ r	A	R ₁ r
23	-	-	+	+	-	+	-	+	-	O	R ₁ R ₁	O	R ₁ R ₁
24	-	-	+	-	+	+	-	+	-	O	Ror	O	Ror
25	+	-	-	-	+	+	-	+	-	A	Ror	O	R ₁ r
26	-	-	+	+	+	+	+	+	-	O	R ₁ R ₂	O	R ₁ R ₂
27	+	-	-							A		A	
28	-	-	+	+	+	-	+	-	-	O	R ₁ r	O	R ₁ r
29	+	-	-							A		A	
30	-	-	+							O		O	
31	+	-	-	+	+	+	-	+	-	A	R ₁ r	A	R ₁ r
32	-	-	+							O		O	
33	-	-	+	+	+	+	+	+	-	O	R ₁ R ₂	O	R ₁ R ₂
34	-	+	-							B		B	
35	-	-	+	-	+	+	+	-	-	O	R ₂ R ₂	O	R ₂ R ₂
36	-	-	+	+	+	+	+	+	-	O	R ₁ R ₂	O	R ₁ R ₂
37	+	+	-	+	+	+	+	+	-	A	R ₁ R ₂	A	Ror
38	-	-	+							O		O	
39	-	-	+	-	-	+	-	-	-	O	Ro	O	R ₁ R ₂
40	+	-	-							A		A	
41	-	+	-	+	+	+	+	+	-	B	R ₁ R ₂	B	R ₁ R ₂
42	-	-	+							O		O	
43	-	-	-							-		B	

No. de muestra	anti/ anti.	anti/ anti.	anti/ anti.	Testigo	Anti/ anti.	Testigo	Grupo encontrado "ABO"	Grupo encontrado "Rh-Hr"	Grupo esperado "ABO"	Grupo esperado "Rh-Hr"				
44	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	R ₁ r'	O	R ₁ R ₂
45	-	-	-	-						-	-		O	
46	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	O	R ₁ R ₂	O	R ₁ R ₂
47	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	O	Ror	O	R ₁ r
48	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-	B	R ₁ R ₁	B	R ₁ R ₁
49	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	A	R ₂ R ₂	A	R ₂ R ₂
50	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	O	R ₁ R ₁	O	R ₁ R ₁
51	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	O	R ₁ R ₁	O	R ₁ R ₁
52	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	O	R ₁ R ₁	O	R ₁ R ₂
53	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	O	---	O	rr
54	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	O	R ₂ r	O	R ₂ r
55	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	A	R ₁ r'	A	R ₁ R ₂
56	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-	O	R ₁ r	O	R ₁ r
57	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-	O	r'r	O	R ₁ r
58	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	A	R ₂ R ₂	A	R ₂ R ₂
59	-	-	+	-						-	O		O	
60	-	-	+	-						-	O		O	
61	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	O	Ror	O	R ₁ r
62	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	O	R ₁ R ₂	O	R ₁ R ₂
63	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	O	R ₂ r"	O	Ror
64	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	O	R ₁ R ₁	O	R ₁ r

No. de muestra	anti. anti.	anti	Testigo	anti. anti.	anti. anti.	anti. anti.	anti. anti.	Testigo	Grupo encontrado "ABO"	Grupo encontrado "Rh-Hr"	Grupo esperado "ABO"	Grupo esperado "Rh-Hr"	
65	+ -	-	-	-	+	+	+	-	-	A	R ₂ R ₂	A	R ₂ R ₂
66	- -	+	-	+	+	+	+	+	-	O	R ₁ R ₂	O	R ₁ R ₂
67	+ -	-	-	-	+	+	+	+	-	A	R ₂ r	A	R ₂ r
68	- -	+	-	-	+	+	+	-	-	O	R ₂ R ₂	O	R ₁ R ₂
69	- -	+	-	-	+	-	-	+	-	O	r-r	O	r-r
70	- -	+	-	+	+	+	+	-	-	O		O	R ₁ R ₂
71	+ -	-	-						-	A		B	
72	- -	+	-	+	-	+	-	+	-	O	R ₁ R ₁	O	R ₁ R ₁
73	+ -	-	-						-	A		A	
74	- -	-	-	-	-	+	-	+	-	-		O	R ₁ R ₁
75	- -	+	-	-	-	-	-	-	-	O	---	O	r-r
76	- -	+	-	+	+	+	-	+	-	O	R ₁ r	O	R ₁ r
77	- -	+	-						-	O		O	
78	+ -	-	-	+	+	+	-	+	-	A	R ₁ r	A	Ror
79	- -	+	-						-	O		O	
80	- -	-	-						-	-		A	
81	- -	-	-	+	+	+	+	+	-	-	R ₁ R ₂	O	R ₁ R ₂
82	- -	+	-						-	O		O	
83	- -	-	-	-	+	+	-	+	-	-	Ror	A	R ₂ R ₂
84	- -	+	-						-	O		O	
85	- -	+	-	-	+	+	+	+	-	O	R ₂ r	O	R ₁ R ₂

No. de muestra	anti- enti-	enti- enti-	Testigo	anti- enti-	anti- enti-	anti- enti-	anti- enti-	anti- enti-	Testigo	Grupo encontrado "AJC"	Grupo encontrado "Rh-Hr"	Grupo esperado "ABO"	Grupo esperado "Rh-Hr"
86	-	+	-	-	+	+	-	-	-	O		O	R ₁ r
87	-	+	-	-	-	-	-	-	-	B		B	
88	-	+	-	-	+	+	+	+	-	O	R ₂ r	O	R ₂ r
89	-	+	-	+	-	+	-	+	-	O	R ₁ R ₁	O	R ₁ R ₁
90	-	+	-	+	-	+	-	+	-	O	R ₁ R ₁	O	R ₁ R ₁
91	-	+	-	+	+	+	+	+	-	O	R ₁ R ₂	O	R ₁ R ₂
92	-	+	-	-	+	+	-	-	-	O		O	R ₁ r
93	-	+	-	-	+	+	-	-	-	O		O	R ₁ r
94	-	+	-	+	+	+	+	+	-	O	R ₁ R ₂	O	R ₁ R ₂
95	-	+	-	-	-	-	-	-	-	O		O	
96	-	+	-	+	+	+	+	+	-	O	R ₁ R ₂	O	R ₁ R ₂
97	+	-	-	-	+	+	+	-	-	A	R ₂ r ₂	A	R ₁ R ₂
98	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	R ₁ R ₁	O	R ₁ r
99	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	Ror	O	Ror
100	-	+	-	+	+	+	+	+	-	O	R ₁ R ₂	O	R ₁ R ₂
101	-	+	-	-	+	+	+	-	-	O	R ₂ R ₂	O	R ₁ R ₂
102	-	+	-	-	-	-	-	-	-	O	---	O	R ₁ R ₂
103	-	+	-	-	-	-	-	-	-	O		O	
104	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-		O	R ₁ r
105	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		O	
106	-	+	-	-	-	-	-	-	-	O	----	O	R ₁ r

No. de muestra	Anti: anti:	Anti: anti:	Testigo	Anti: anti:	Anti: anti:	Anti: anti:	Anti: anti:	Anti: anti:	Testigo	Grupo encontrado "ABO"	Grupo encontrado "Rh-Hr"	Grupo esperado "ABO"	Grupo esperado "Rh-Hr"
107	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	---	B	R ₁ R ₂
108	-	-	+	-	+	+	-	+	-	O	Ror	O	R ₁ r
109	-	+	-	-	+	+	+	-	+	B	R ₁ r	B	R ₁ r
110	-	-	+	-	+	+	+	+	-	O	R ₂ r	O	R ₂ r
111	+	-	-	-	+	+	+	+	+	A	R ₁ R ₂	A	R ₁ R ₂
112	-	-	+	-	-	+	+	+	-	O	R ₂ R ₂	O	R ₁ R ₂
113	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	Ror	O	R ₁ r
114	-	-	+	-	-	+	+	+	-	O	R ₂ R ₂	O	R ₂ R ₂
115	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	r-r	O	r-r
116	-	-	+	-	-	+	+	-	-	O		O	R ₁ r
117	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-		O	R ₁ R ₂
118	-	-	+	-	-	-	-	-	-	O		O	
119	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		A	R ₁ R ₂
120	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		O	
121	-	-	+	-	+	+	+	+	+	O	R ₁ R ₂	O	R ₁ r
122	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-		B	R ₁ r
123	-	-	+	-	+	+	+	+	+	O	R ₁ R ₂	O	R ₁ R ₂
124	-	-	+	-	-	+	+	-	+	O	Ror	O	R ₁ r
125	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	R ₁ R ₂	O	R ₁ r
126	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	R ₁ R ₁	O	R ₁ R ₁
127	+	-	-	-	+	+	+	+	+	A	R ₁ R ₂	A	R ₁ R ₂

No. de muestra	anti- anti-	anti- anti-	Testigo	anti- anti- anti- anti- anti-	anti- anti- anti- anti- anti-	Testigo	Grupo encontrado "ABO"	Grupo encontrado "Rh-Hr"	Grupo esperado "ABO"	Grupo esperado "Rh-Hr"
128	-	-	-	+	+	+	-	R ₁ R ₂	O	R ₁ R ₂
129	-	+	-	+	+	+	B	R ₁ R ₂	B	R ₁ R ₂
130	-	-	-	-	+	+	-	R ₂ R ₂	A	Ror
131	-	-	+	+	+	+	O	R ₁ R ₂	O	R ₁ R ₂
132	+	-	-	-	+	+	A	Ror	A	R ₁ r
133	-	-	+	+	-	+	O	R ₁ R ₁	O	R ₁ R ₁
134	-	-	-	-	+	+	-	-	O	R ₁ r
135	+	-	-	+	+	+	A	---	A	R ₁ R ₂
136	-	-	-	+	+	+	-	R ₁ R ₂	O	R ₁ r
137	-	-	-	-	+	+	-	Ror	A	R ₁ r
138	-	-	-	-	-	-	-	-	O	-
139	-	-	+	+	+	+	O	R ₁ R ₂	O	R ₁ R ₂
140	-	-	+	+	-	-	O	O	O	Ror
141	-	+	-	-	+	+	B	R ₂ R ₂	B	R ₂ R ₂
142	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-
143	-	-	-	-	-	-	-	---	O	R ₁ R ₂
144	-	-	+	-	+	+	O	R ₂ R ₂	O	R ₁ R ₂
145	-	-	+	+	+	+	O	R ₁ R ₂	O	R ₁ R ₂
146	-	-	-	-	+	-	-	r-r	A	r-r
147	-	-	+	+	+	+	O	R ₁ R ₂	O	R ₁ R ₂
148	-	-	+	-	+	-	O	-	O	R ₁ r

No. de muestra	Anti-anti	Anti-anti	Testigo	Anti-anti	Anti-anti	Anti-anti	Anti-anti	Anti-anti	Testigo	Grupo encontrado "ABO"	Grupo encontrado "Rh-Hr"	Grupo esperado "ABO"	Grupo esperado "Rh-Hr"
149	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	
150	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	
151	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	R ₁ R ₂	O	R ₁ R ₂
152	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	O	R ₁ r
153	+	-	-	-	+	+	+	+	+	A	R ₁ R ₂	A	R ₁ R ₂
154	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	O	Ror
155	-	+	-	-	-	-	-	-	-	B	-	B	R ₁ r
156	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	Ro	O	
157	-	-	+	-	+	+	+	-	-	O	-	O	R ₁ r
158	-	-	+	-	-	+	+	+	-	O	R ₂ R ₂	O	R ₁ R ₂
159	-	-	+	-	-	-	+	-	-	O	Ro	O	R ₁ R ₂
160	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	B	
161	-	-	+	-	-	+	-	-	+	O	-	O	R ₁ r
162	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	
163	-	-	+	-	+	+	+	+	+	O	R ₁ R ₂	O	R ₁ R ₂
164	-	-	+	-	-	-	-	-	-	O	-	O	
165	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	R ₁ r	O	R ₁ r
166	-	-	+	-	-	+	+	+	-	O	R ₂ R ₂	O	R ₂ R ₂
167	-	-	+	-	-	-	-	-	-	O	-	O	
168	-	-	+	-	-	-	-	-	-	O	-	O	
169	+	-	-	-	+	+	+	+	+	A	R ₁ R ₂	A	R ₁ R ₂

No. de muestra	Anti/ anti:	Anti:	Testigo	Anti:	Anti:	anti:	Anti:	Anti:	Testigo	Grupo encontrado "ABO"	Grupo encontrado "Rh-Hr"	Grupo esperado "ABO"	Grupo esperado "Rh-Hr"	
170	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	A	R ₁ R ₂	A	R ₁ R ₂
171	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	R ₂ r	O	R ₂ R
172	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	R ₁ R ₂	A	R ₁ R ₂
173	-	-	+	-							O	O	O	
174	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	B	R ₂ R ₂	B	R ₂ R ₂
175	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	R ₁ R ₂	O	R ₁ R ₂
176	-	-	-	-							-	O	O	
177	-	-	+	-							O	O	O	
178	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	O	O	O	R ₁ r
179	-	-	+	-							O	O	O	
180	-	-	+	-							O	O	O	
181	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	O	R ₁ R ₂	O	R ₁ R ₂
182	+	-	-	-							A	A	A	
183	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	O	R ₂ r	O	R ₂ r
184	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	O	R ₁ R ₂	O	R ₁ R ₂
185	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	R ₁ R ₂	A	R ₁ R ₂
186	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	B	R ₁ R ₂	B	R ₁ r
187	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	O	Ror	O	R ₁ r
188	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	R ₂ R ₂	O	R ₂ R ₂
189	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	R ₁ R ₂	O	R ₁ R ₂
190	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	O	R ₁ R ₂	O	R ₁ R ₂

No. de muestra	Anti- anti-	anti-	anti-	Testigo	Anti- anti-	anti-	anti-	anti-	anti-	Testigo	Grupo encontrado "ABO"	Grupo encontrado "RH-Hr"	Grupo esperado "ABO"	Grupo esperado "RH-Hr"
191	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	A		A	R ₁ F
192	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	O	---	O	R ₁ R ₂
193	-	-	+	-							O		O	
194	-	-	+	-							O		O	
195	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	A	R ₁ R ₂	A	R ₁ R ₂
196	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	O	R ₂ r	O	R ₂ r
197	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	O	---	O	R ₁ r
198	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	B	---	B	R ₁ R ₂
199	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	A	R ₁ R ₂	A	R ₁ R ₂
200	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	O	Ror	O	R ₁ r

Las primeras 100 muestras se trabajaron en tejido plano - fibra corta - algodón .

Las últimas 100 muestras se trabajaron en tejido plano - fibra corta ó filamento - rayón.

ANALISIS ESTADISTICO

" Prueba -z- de Proporciones "

Donde: $P_o = 0.5$

$Q_o = 1 - P_o = 0.5$

$$E = \frac{P - P_o}{P_o Q_o / n}$$

Para el algodón: Total de muestras manchadas = 55 = n

Total de muestras tipificadas = 43

$$P = \frac{43}{55} = 0.782$$

La P_o se toma como el 0.5 del total de muestras que deben de ser tipificadas correctamente para que sea posible seguir el estudio .

$$Z = \frac{0.782 - 0.500}{(0.5)(0.5) / 55} = \frac{0.282}{0.0674} = 4.183$$

Resultando que la prueba es muy confiable , ya que de un valor arriba del 0.5 señalado.

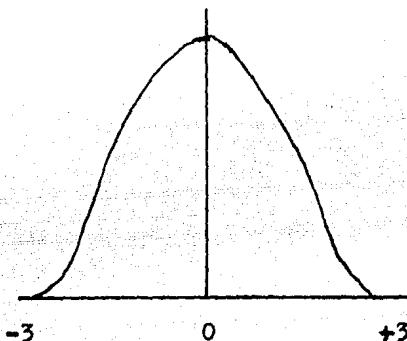
Para las telas sintéticas : Total de muestras manchadas=145

Total de muestras tipificadas=45

$$P = \frac{45}{145} = 0.310 \quad P_o = 0.5$$

$$Z = \frac{0.310 - 0.500}{(0.5)(0.5) / 145} = \frac{-0.190}{0.042} = -4.576$$

Este valor indica que las telas sintéticas analizadas por la técnica de absorción-elución, no es confiable, ya que da un resultado negativo.



Cuando $P = 0.5$ y $Z = 0$

Utilizando la prueba de " Z Proporciones " se analizó estadísticamente la confiabilidad de la técnica que se utiliza en este trabajo experimental.

Observando que se tiene un alto por ciento de confiabilidad cuando el sustrato es de algodón.

V .- DISCUSION :

Se observó que para los antígenos del sistema ABO, se detecten sin problema hasta 10 semanas de envejecimiento , siendo el antígeno A el que menos se afectó .

Para los antígenos del sistema Rh-Hr , el antígeno D fué detectable hasta 9 semanas de envejecimiento , el antígeno c fué el que mostró una mejor reacción de positividad con respecto a los demás antígenos del sistema Rh-Hr . Se notó que la detección es afectada principalmente por la temperatura y humedad en que permanecen las muestras . Por este motivo se sugiere que la muestra sea preservada en un ambiente seco , oscuro y libre de variaciones de temperatura .

Tomando en cuenta que el grado de individualización decrece rápidamente con el incremento de la edad de la sangre seca , especialmente cuando se expone a la humedad ambiental . Pero también la detección es una función de la sensibilidad de las técnicas analíticas actuales , mientras que la persistencia es una función del rango de desnaturalización o degradación química de los marcadores genéticos .

VI .- CONCLUSIONES .

Este estudio fué realizado con el fin de ayudar en la investigación forense , dando los siguientes resultados .

- a) Una mancha de sangre de mas de tres meses de seca - no sirve para detectar los antígenos del sistema Rh Hr .
- b) El substrato de algodón de un alto por ciento de -- confiabilidad , con respecto a las telas sintéticas empleadas en este estudio .
- c) Por último, se puede señalar que la microtécnica di señada es confiable en telas de algodón , tomando - en cuenta las condiciones ambientales a las que pue de estar expuesta antes de ser analizada .

VII BIBLIOGRAFIA .

1.- Bargagna M. Pereire M (1976)

A study of absorption-elution as a method of identification of Rhesus antigens in dried blood stains.

J Forens. Sci. Soc. 7 , 123

2.- Culliford B.J. (1971)

The examination and typing of blood stains in the crimen -- Laboratory .

National Institute of Law Enforcement and Criminal Justice

3.- Lincoln P.J. & L. Dodd B.E. (1968)

The detection of the Rh antigens C , C^w , c , D , E and e - and the antigens S of the MNS system in blood stains , .

Medicine Sci Law 8 , 288 .

4.- P.K. Chatterji (1977)

A simplified mixed agglutination technique for ABO grouping of dried bloodstains using cellulose acetate sheets.

J. Forens Sci. Soc. 17 , 143 .

5.- P.D. Martin (1977)

A manual method for the detection of Rh antigens in dried bloodstains .

J. Forens Sci. Soc. 17 , 139 .

6.- Wiener A , S.

A New test (blocking test) for Rh sensitization .

Proc. Soc. Ex Biol Med 56 : 173 (1944).

7.- Race , R . R .

An "incomplete" antibody in human serum .

Nature 153 : 771 (1944).

8.- Kind S.S.

Absorption-elution of dried blood smears .

Nature (London) Vol 185 (1960) 397-398 .

9.- Kind S.S.

Absorption-elution of dried blood on fabrics.

Nature (London) Vol 187 (1960) 798-790 .

10.- Nichols , L.C. and Pereira M .

A study of Modern Methods of Grouping Dried . "Bloodstains"
Medicine Science and the Law Vol 2 (1962).

11.- Outteridge , R.A.

Recent Advances in the Grouping of Dried Blood and Secretion stains .

Methods of Forensic Sciences . Vol IV A.S. Curry .

Ed. Intersciences New York (1965) 299-332.

12.- G.C. Denault B.S. & H.H. Takimoto Ph D.

Detectabilidad of Selected Genetic Markers in Dried Blood
on Aging .

Journal of Forensic Sci. JFSCA . Vol 25 No. 3 Jul, 1980

13.- Mollison C.L.

Blood Transfusion in Clinical Medicine .

2 Th . Ed. F.A. Davis Ph a Pem 1967 .

14 .- Race y Senger .

Los grupos sanguíneos en el hombre .

2a. Ed. La Prensa Médica .

- 15.- Kathleen E. Boormen ; Barbara E. Dodd .
Theory , Techniques , Practical Applications .
Fifth edition . Ed . Churchill Livingstone .
- 16.- Robert K. Greendyke , M. D.
Blood Bank Policies and Procedures .
2 Th Ed. Medical examination P. Co.
- 17.- Manuel Hyland de Immunohematología .
Nancy R. Allen .
L. D. John W Palmer . Trevenol Lab.
- 18.- W.C. Hughes-Jones .
Nature of the reaction between antigen and antibody .
Vox Sang 52 : 610 - 621 (1980) .
- 19.- C.J. Vans Oss . J.F. Mohn and R.H. Cunningham .
Influence of various physicochemical factors on hemagglutination .
Vox Sang 24 ; 273-279 (1973).
- 20.- F. Stretton , Violet I. Rawlinson .
The role of zeta Potential in Rh agglutination.
Vox sang 24 : 351-361 (1978).
- 21.- W. Pollack and R.P. Reckel .
The zeta Potential and Hemagglutination with Rh antibodies.
Int. Arch. Allergy 38 : 482-496 (1970) .
- 22.- Estrada-Parra .
Especificidad inmunológica .
Rev. Lat-Amer. Microbiology 12 (1970) .

23.- Lincoln P.J. & Dodd B.F.

An evaluation of factors affecting the elution of antibodies from blood stains .

J. Forens Sci. Soc. 13 , 37 (1973) .

24.- Fiori , A. Marigo , M . and Benciolmi

Modified Absorption-elution Method of Siracuse for ABO -- and MN Grouping of Bloodstains.

Journal of Forens Sciences Vol 8 419-445 (1963).

25.- Douglas R. and Staveskes J.M.

Rh and Kell typing of dried bloodstains.

Journal of Forens Sciences Vol 14, 225-262 (1969) .

26.- Procedimientos básicos para la selección de donador de -- sangre en la Ciudad de México.

Revista Médica del IMSS Vol 7 , 131 (1969) .

27.- Utilidad del Laboratorio del Banco de Sangre en la terapéutica transfusional .

Anuario de actualización en Medicina .

Vol . IX No. 25 Hematología (1978).