

2ej
22



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE QUIMICA

DETERMINACION DE LAS POSIBLES VARIACIONES
EN LA TIPIFICACION DE UNA MUESTRA DE SANGRE
SECA, DESDE EL PUNTO DE VISTA QUIMICO LEGAL,
DURANTE PERIODOS DE TIEMPO ESTABLECIDOS.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A
FERNANDO DELGADO FERNANDEZ

MEXICO, 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.

INDICE

	PAG.
CAPITULO I . INTRODUCCION	
IMPORTANCIA DE LA DETERMINACION EN LA CRIMINALISTICA .	1
CAPITULO II . GENERALIDADES .	
LOS ERITROCITOS .	4
INVESTIGACION DE MANCHAS DE SANGRE SECA .	7
CAPITULO III .	
OBJETIVOS .	19
CAPITULO IV . METODOLOGIA .	
MATERIAL .	21
TECNICAS .	25
CAPITULO V .	
RESULTADOS .	40
CAPITULO VI .	
COMENTARIOS .	49
CAPITULO VII .	
CONCLUSIONES .	52
BIBLIOGRAFIA .	54

C A P I T U L O I

INTRODUCCION

IMPORTANCIA DE LA DETERMINACION EN LA CRIMINALISTICA .

IMPORTANCIA DE LA DETERMINACION EN LA CRIMINALISTICA .

A medida que pasa el tiempo, el delincuente es más inteligente y sofisticado, por tal motivo, la Criminalística, --- que estudia sistemáticamente las huellas del delito dejadas por el culpable (13), ha tenido que auxiliarse de algunas -- Ciencias, como son : Química, Biología, Inmunología, Hematología, etc., para elevar los simples indicios al rango de -- pruebas.

Entre los indicios que el delincuente deja en el lugar de los hechos y que a veces se lleva sobre sí mismo, están las manchas de sangre, que si se saben interpretar (Lenguaje de las manchas sanguíneas) en el lugar de los hechos, son de mucha ayuda, para establecer lo sucedido en el momento del delito y la Tipificación de estas, pueden ser tomadas como una prueba excluyente en muchos casos (16).

Para la Tipificación de una mancha sanguínea intervienen varios factores como son : un tamaño adecuado, estar sobre una superficie lisa de preferencia no absorbente para poder extraerla, si está absorbida, emplear procedimientos de extracción apropiados. Esta Tipificación ayuda a establecer en algunos casos, cuál es el arma homicida o el objeto que usó el delincuente para efectuar el delito y situar al presunto responsable en el lugar de los hechos, en el caso de que --- haya salido lesionado o si al momento de efectuar el delito

se maculó la ropa con sangre de la víctima (26) .

La Tipificación de las manchas de sangre seca, aportan pruebas de gran valía para procesar al delincuente, algunas veces estos cuentan con los medios legales adecuados, para después de algún tiempo, presentar una apelación y reabrir nuevamente el caso. En estas situaciones es necesaria una nueva intervención de los Peritos que efectuaron las pruebas, para ratificar su dictamen y por consiguiente, volver a muestrear el lugar de los hechos en el caso de que éste conser--vado adecuadamente, o bien utilizar las muestras que origi--nalmente se recogieron del lugar de los hechos, si se guar--daron en forma apropiada (26).

El objetivo de éste trabajo estriba precisamente en eso, en determinar qué tan confiables son los resultados obteni--dos con muestras de sangre seca después de diversos períodos de tiempo, así también, qué tan confiables son los resultados obtenidos en la Tipificación repetida de una misma muestra.

C A P I T U L O I I

GENERALIDADES

LOS ERITROCITOS .

INVESTIGACION DE MANCHAS DE SANGRE SECA .

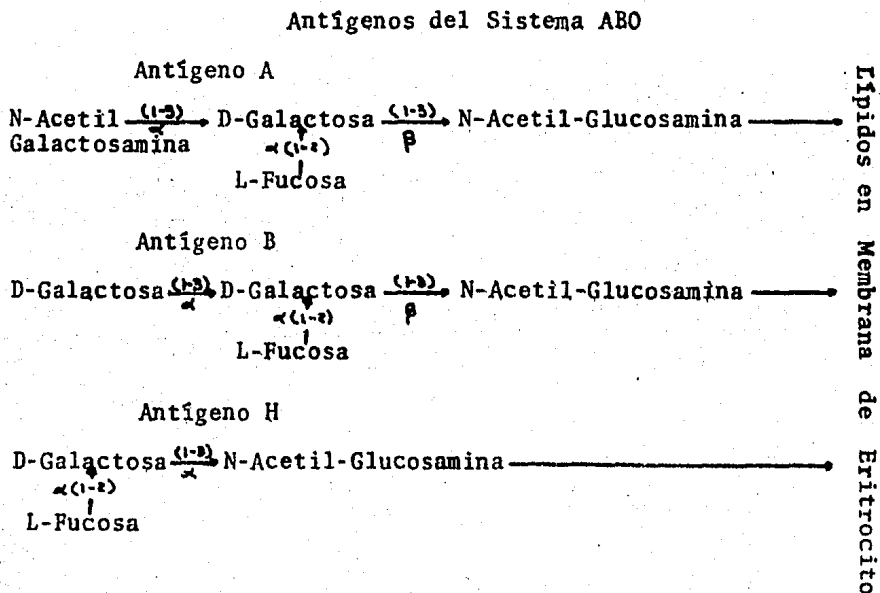
ERITROCITOS.

Son células adultas de la serie roja, tienen forma de discos bicóncavos no nucleados que se tiñen de color rosa con el colorante de Wright, su diámetro medio en preparaciones secas es 7.2 micras con fluctuaciones de 6.7 a 7.7 micras (11).

Antígenos ABO en Eritrocitos.

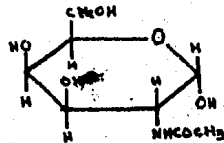
Como se mencionó anteriormente; los eritrocitos son las células más abundantes de la sangre y principales portadores de los aglutinógenos del grupo sanguíneo, los cuales se localizan en el ESTROMA de estos.

Estudios realizados con material antigénico aislado del estroma, han mostrado que la naturaleza de los antígenos del sistema ABO son GLUCOLIPIDOS (1), que poseen la siguiente estructura :

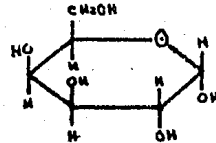


Como se observa, la estructura del antígeno H, es común para los demás, por lo cual en antígeno H es precursor del antígeno A y B. Además, los subgrupos A₁ y A₂ de las células rojas exhiben una diferente afinidad hacia los anticuerpos específicos para el antígeno H (es mayor en las células A₂), esto da la pauta para sugerir que algunos antígenos A₂ no son formados completamente, o sea que son residuos terminales de N-Acetil-Galactosamina (1).

Si se observa la estructura de los antígenos A y B, nos damos cuenta que la única diferencia que existe entre ambas es una D-Galactosa por una N-Acetil-Galactosamina y si analizamos las fórmulas de cada una, la única diferencia es una amida (acetamida).



N-Acetil-Galactosamina



D-Galactosa

Grupos Sanguíneos ABO.

En 1900 Landsteiner observó que los hematíes de algunos de sus colaboradores eran aglutinados por el suero sanguíneo de otros (11). El hallazgo de los grupos sanguíneos dió como resultado el nacimiento de una nueva rama de la Biología Humana, al principio no se le dió importancia al descubrimiento, pero en 1901 ya era conocido ampliamente. Landsteiner tomó

muestras de sangre de seis colegas, separó el suero y preparó suspensiones de los eritrocitos con solución salina. Cada uno de los sueros lo mezcló con cada una de las suspensiones de glóbulos rojos y en algunos casos hubo aglutinación y en otros no. Con base en esto, Landsteiner dividió a los humanos en tres grupos distintos. El cuarto y más raro grupo, fue descubierto por sus alumnos Von Decastello y Sturli en 1902 (11, 31).

Landsteiner explica la existencia de cuatro grupos en las personas con sólo dos antígenos : unos tenían uno solo (A); otros, un segundo (B); otros ambos (AB); y otros ninguno (O). Reconoció además, la distribución recíproca en la sangre, de los antígenos de los hematíes y de los anticuerpos del suero y comprobó que ningún suero contenía un anticuerpo correspondiente al antígeno presente en los hematíes de la misma sangre, pero que, salvo raras excepciones, el anti-A o el anti-B o ambos se encontraban en el suero cuando los eritrocitos no poseían los antígenos correspondientes (11),

Lo anterior lo presenta en el siguiente cuadro :

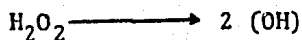
Grupo Sanguíneo	Antígenos en los Hematíes	Anticuerpos en el suero
O	-	anti-A y anti-B
A	A	anti-B
B	B	anti-A
AB	A y B	ninguno

INVESTIGACION DE MANCHAS DE SANGRE SECA.

Antes de realizar la Tipificación de una mancha de sangre seca, es necesario saber que se trata de sangre humana, por lo que se deben realizar distintas pruebas, lo que en Criminalística se conoce como "RASTREO HEMATICO", las pruebas en cuestión son : de Orientación o Presuntivas, Confirmativas, Determinación del Origen y Tipificación del Grupo Sanguíneo.

1.- Pruebas de Orientación o Presuntivas.

La mayoría de las Pruebas de Orientación o Presuntivas, están basadas en que el hierro iónico forma estructuras quelatadas con muchos compuestos orgánicos y frecuentemente algunos quelatos del hierro, poseen actividad catalítica en reacciones de oxidación. Ejemplo de un catalizador biológico semejante es la peroxidasa, la cual descompone el peróxido de hidrógeno o peróxidos orgánicos a radicales libres hidroxilos.



El grupo Hemo de la hemoglobina posee una peroxidasa de actividad semejante, que cataliza el rompimiento del peróxido de hidrógeno, se descompone en agua y oxígeno, este último causa cambio de color del indicador, cuando se realiza esta prueba (6).

1.1.- Prueba de la Bencidina.

La oxidación de la Bencidina posee una alta sensibilidad, de 1 parte en 300 000 a 500 000. Una prueba negativa es concluyente para no continuar con el análisis.

Preparación de Reactivos :

Solución de Bencidina : 0.25 gs., de Bencidina se disuelven en 175 ml., de etanol. Agregar 5 o 10 gotas de ácido acético glacial. La muestra se guarda en un frasco gotero para su uso .

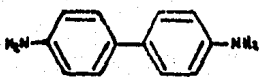
Peróxido de Hidrógeno : Solución al 3 % en un frasco gotero.

Procedimiento :

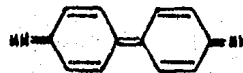
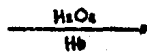
- 1.- La mancha sospechosa se extrae con un isopo húmedo (con etanol).
- 2.- Agregar 2 gotas de solución de Bencidina al isopo.
- 3.- Agregar 2 gotas de Peróxido de Hidrógeno al 3% al isopo.

La formación casi inmediata de un color azul indica una prueba positiva.

Reacción Química :



Bencidina Reducida



Bencidina Oxidada

La cantidad de muestra problema puede ser limitada en algunas evidencias, en éste caso, cuando hay una sola fibra, se puede remover y probar directamente aplicando la solución a la fibra. Puede haber reacciones falsas positivas, debido a otras sustancias, que posean peroxidasas de actividad semejantes, tales como :

De origen vegetal ; manzana, albaricoque, remolacha, rábano, papas, nabo, etc.

De origen animal ; médula ósea, leucocitos, masa encefálica, fluido espinal, saliva y moco .

De otro origen ; formalina, sulfato de cobre, sulfato de potasio y permanganato de potasio (6, 20).

1.2.- Prueba de la Fenolftaleína Reducida.

Esta es más sensible que la prueba de la Bencidina, en la literatura se reportan valores de 1:1 000 000 a 1:10 000-000. Por tal motivo algunos autores recomiendan hervir las muestras de sangre sospechosa con 1 o 2 ml., de solución salina isotónica durante un minuto a 100°C, con el fin de destruir algunas peroxidasas de origen vegetal, que pudieran estar presentes.

Preparación de Reactivos ;

Solución de Fenolftaleína ; en un matrás se colocan 20-gs., de Hidróxido de potasio, 2 gs., de Fenolftaleína y 100 ml, de agua destilada, los cuales son refluados con 20 gs., de ---

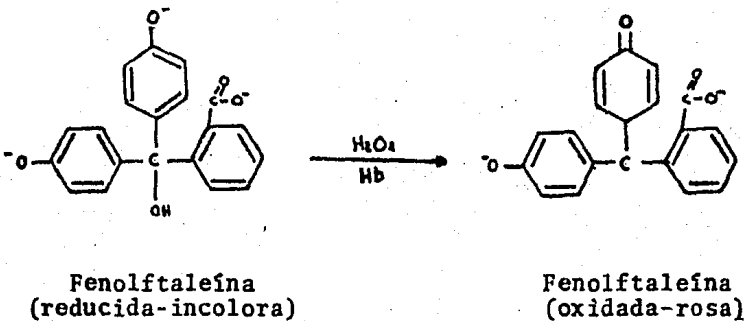
granalla de zinc, hasta que la solución sea incolora.

Peróxido de Hidrógeno : Solución al 3% en un frasco gotero.

Procedimiento :

El procedimiento es el mismo que se describió para la prueba de la Bencidina.

Reacción Química :



La desventaja de la prueba de la Fenolftaleína es su labilidad, por tal motivo deberá conservarse en refrigeración en frascos de color ambar, hasta que sea usada. Otra desventaja son los resultados falsos positivos, debido a otras substancias que poseen peroxidasas de actividad semejante, como : pepinos, col, apio, saliva, cereal, etc. (6, 20)

2.- Pruebas Confirmativas.

Después de una prueba de orientación positiva, es necesario realizar una prueba confirmativa, la cual es altamente

indicativa para sangre.

2.1.- Prueba de la Hemina o Hematina.

(Reacción de Teichmann).

Es específica para el grupo prostético de la hemoglobina, es la más antigua y fue propuesta por Teichmann en --- 1853. Un resultado positivo en esta prueba, es debido a la combinación de un halógeno con ferrihemo (Ferriprotoporfirina), los cristales formados son de 1 a 20 micras de tamaño, de -- forma rómbica y de color café pardo. (18, 20)

Preparación de Reactivos :

Solución Salina Isotónica : al 0.85 %.

Acido Acético Glacial.

Procedimiento :

1.- Una pequeña muestra del material problema se extrae con solución salina isotónica y se coloca entre un portaobjetos y un cubreobjetos.

2.- Se agrega unas gotas de ácido acético glacial entre el portaobjetos y el cubreobjetos de modo que éste tenga contacto con la muestra.

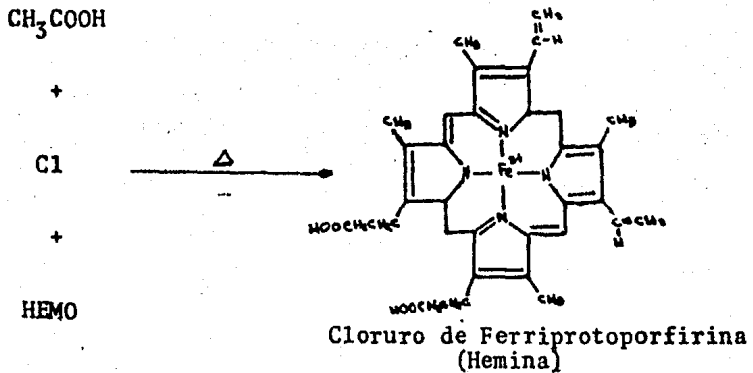
3.- Se presiona con el cubreobjetos con el fin de eliminar las burbujas.

4.- La formación de los cristales es por medio de calentamiento suave durante dos minutos.

5.- La observación microscópica revela la presencia de cristales de Hemina rómbicos, los cuales indican la presen--

ciá de sangre en la muestra.

Reacción Química :



2.2.- Prueba del Hemocromógeno (Reacción de Takayama).

Es más sensible que la prueba de la Hemina y se basa en la habilidad que tienen la Ferroprotoporfirina y la Ferriprotoporfirina de combinarse con otros compuestos que tengan Nitrogeno, además de la globina. Algunas substancias inclusive otras proteínas, amonio, cianuro, nicotina y piridina, pueden dar como producto Hemocromógeno. Los cristales pueden ser formados a un pH ácido o alcalino.

Preparación de Reactivos :

Reactivo de Takayama : mezclar, 5 ml., de una solución saturada de glucosa, 5 ml., de una solución acuosa al 10 % de hidróxido de sodio y 5 ml., de piridina. Agregar a esta solu

ción 10 ml., de agua destilada. La mezcla resultante se guarda en frascos color ambar y se debe de preparar diariamente.

Procedimiento :

- 1.- Se coloca la muestra problema entre un portaobjetos y un cubreobjetos.
- 2.- Agregar el reactivo de Takayama, resbalándolo entre el portaobjetos y cubreobjetos.
- 3.- Se coloca el portaobjetos en una parrilla caliente a 70°C, durante 20 a 30 segundos.
- 4.- La aparición de un color rosa o rojo alrededor de la muestra, indica que se puede observar al microscópio la formación de cristales de Hemocromógeno o Piridin-ferroprotoporfirina, los cuales tienen la forma de prismas rómbicos alargados y agrupados en racimos.

Reacción Química :

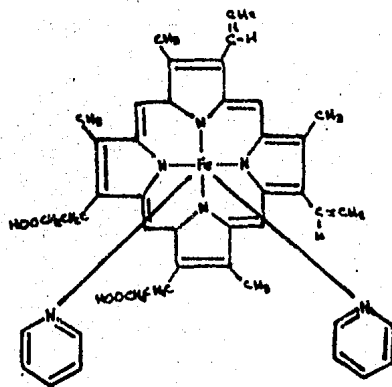
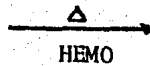
NaOH

+

GLUCOSA

+

PIRIDINA



Piridin-ferroprotoporfirina
(Hemocromógeno)

3.- Determinación del origen.

La técnica más simple y posiblemente la más comunmente usada en Serología Forense, es la reacción de precipitinas, esta puede efectuarse de diferentes maneras, pero todas se fundamentan en el siguiente principio ; las moléculas de anticuerpos (inmunoglobulinas) reaccionan con los antígenos (proteínas solubles), para formar un precipitado (complejo antígeno-anticuerpo), el cual puede ser observado a simple vista en condiciones óptimas de luz; o bien utilizando una lente de aumento. Generalmente la reacción de precipitinas ocurre como resultado de la interacción de algunas fuerzas que actúan entre los reactantes, como son : Fuerzas de Vander-Waals, Puentes de Hidrógeno, Interacción Dipolar, Atracción Monopolar iguales entre el antígeno y el anticuerpo y Atracción Electroestática (4, 6).

Esta reacción puede realizarse de diferentes maneras, como en la interfase de dos líquidos en un tubo de ensaye o en un capilar. En un gel como resultado de una difusión encontrada de los reactantes, o en un electroforegrama procurando que los reactantes esten en contacto uno con el otro bajo la influencia de una corriente eléctrica (1, 6).

3.1.- Precipitación en Tubo.

Este método es simple, rápido y confiable cuando se realiza adecuadamente, y además puede hacerse en un tubo capilar cuando las cantidades de los reactantes estan limitadas (6,20).

3.2.- Precipitación en un Medio de Gel.

Como el descrito por Oudin y Ouchterlony, tienen la ventaja sobre el método en tubo, porque se pueden usar extrac--tos de manchas no muy limpios y además pueden usarse pequeñas cantidades de los reactantes. La desventaja, es el tiempo que es necesario para que ocurra la difusión. Actualmente la Micro metodología, ha reducido ese tiempo de 2 a 3 días, a unas pocas horas, no obstante la técnica no es tan común como la prueba en tubo (4, 20).

3.3.- Contrainmunoelectroforesis.

Esta técnica resulta de la combinación de la reacción antígeno-anticuerpo y el método de electroforesis, es más sensible que cualquiera de las otras técnicas mencionadas (19).

Factores que afectan la Reacción de Precipitinas.

Cuando se trabaja con sangre y principalmente sangre seca, se sabe de antemano que su análisis podrá afectarse por varios factores, debido a la labilidad de las proteínas que la constituyen. Entre estos factores están : la edad de la mancha, exposición al aire y luz solar, humedad, altas tem--peraturas, el grado de putrefacción y la contaminación por productos químicos (1, 20).

La edad y putrefacción pueden causar efectos degradati--vos en las proteínas de la sangre, pero no son demasiado se--veros para impedir la obtención de una prueba positiva.

La exposición al aire, luz solar y humedad, frecuentemente son suficientes para apresurar la oxidación de una mancha de sangre seca. Actualmente estos factores van siendo menos influyentes para realizar una identificación concluyente de dicha mancha .

El mayor efecto observado en manchas de sangre seca, es un aumento del tiempo necesario para disolver una porción de la mancha, esto se debe a la exposición a altas temperaturas, lo que trae como consecuencia que durante la reacción, la precipitación sea débil y que el tiempo de reacción sea mayor. Lo anterior es fácilmente entendido, si consideramos lo vulnerable que son las proteínas a la desnaturalización por el calor.

El lavado de la mancha de sangre con agua que contenga jabón o detergente, interfiere en la determinación, sin embargo, cuando se hace con agua sola, generalmente no hay problema. Esto ha dado la pauta para que se investigue de qué forma interfieren algunos compuestos químicos, encontrándose reacciones falsas positivas, debido a sales de sodio de los sulfonatos de alquilo, sulfatos de alquilo y sulfatos sintéticos en polvo o disueltos en alcohol. Otro producto químico que influye en esta reacción, es el ácido tánico, el cual puede dar falsas positivas, debido a la precipitación de las proteínas del antisuero.

Recomendaciones a seguir cuando se realice esta Rección.

La extracción de la muestra deberá hacerse a un pH cerca no al neutro.

La prueba puede ser realizada a temperatura ambiente.

Es importante colocar controles positivos y negativos, así como un control con el líquido usado en la extracción, y deberán ser analizados al mismo tiempo que la muestra en estudio.

Cuando se cuenta con un antisuero en buenas condiciones, una reacción positiva deberá obtenerse antes de 5 minutos.

De las técnicas mencionadas, el investigador elegirá la que se ajuste a sus necesidades (20).

4.- Tipificación del Grupo Sanguíneo en Manchas de Sangre Seca.

Existen varias técnicas para la determinación del grupo sanguíneo en sangre seca y todas están basadas en el siguiente principio : los eritrocitos que contienen principalmente el antígeno, están lisados, por tal motivo la determinación no se puede realizar en forma directa, como se hace con sangre fresca.

Existen métodos indirectos para la determinación del grupo sanguíneo en sangre seca, aquí se mencionan solamente dos, que son los utilizados en éste trabajo :

ABSORCION-INHIBICION

ABSORCION-ELUCION.

CAPITULO III

OBJETIVOS

FINALIDAD DE ESTE TRABAJO.

Los objetivos que se persiguen en este trabajo son:

1.- Determinar qué tan confiables son los resultados obtenidos en la tipificación del grupo sanguíneo con muestras de sangre seca, después de un periodo de tiempo prolongado.

2.- Determinar qué tan confiables son los resultados obtenido en la tipificación del grupo sanguíneo en forma repetida en una misma muestra.

3.- Determinar cuál de las dos técnicas empleadas, es más confiable .

CAPITULO IV

METODOLOGIA

MATERIAL .

TECNICAS.

MATERIAL.

El material empleado en la realización de esta trabajo es el siguiente :

a.- Solución Salina Reguladora de Fosfatos.

Esta se prepara a partir de dos soluciones concentradas, las cuales son :

Solución A ; solución de Na_2HPO_4 al 1/15 M. (se pesan -- 9.45 gs., de Na_2HPO_4 y se afora a un litro con agua destilada).

Solución B ; solución de KH_2PO_4 al 1/15 M. (se pesan--- 9.08 gs., de KH_2PO_4 y se afora a un litro con agua destilada).

En un matr az aforado de un litro se colocan 72 ml., de solución A, 28 ml., de la solución B y 8.5 gs., de NaCl, se disuelven y se afora a un litro con agua destilada.

El pH de la solución salina reguladora de fosfatos es de 7.2 .

b.- Suspensión de Glóbulos Rojos.

La suspensión se hace al 2 % con solución salina reguladora, de los tres grupos "A", "B" y "O" .

c.- Antisueros.

Se usan antisueros comerciales y la dilución a la cual se preparan, es la siguiente :

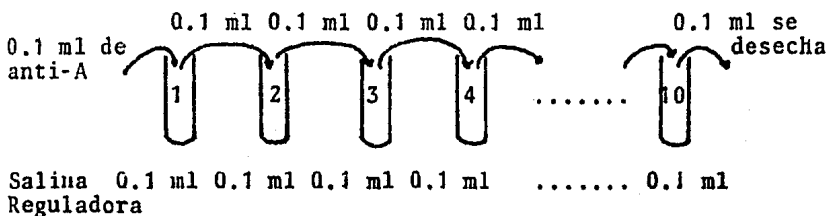
Para Absorción-Elución.

En esta técnica la dilución de los antisueros es de 1:10 para el anti A y anti B (1 ml., del antisuero más 9 ml., de solución salina reguladora), la dilución del suero anti H es 1:2 o se puede usar sin diluir.

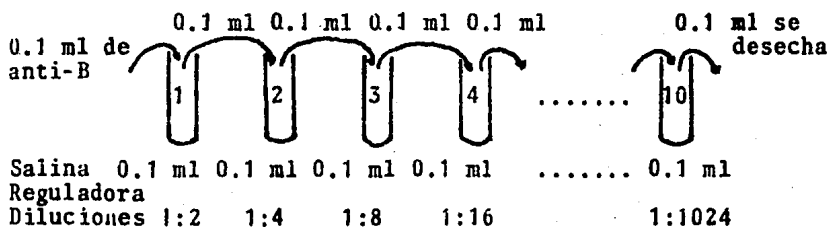
Para Absorción-Inhibición.

1.- Se preparan diluciones sucesivas de los antisueros con el fin de obtener la dilución óptima :

Para el suero anti-A :



Para el suero anti-B



2.- Una vez preparadas las diluciones, se agrega a cada tubo 0.1 ml., de glóbulos rojos, en suspensión al 2 % (grupo "A" a la hilera del suero anti-A; grupo "B" a la hilera del suero anti-B).

3.- Se mezclan suavemente durante 30 segundos y se cen-

trifugan a 3 500 rpm., durante 15 segundos.

4.- Se observa la aglutinación de cada tubo.

Interpretación :

La dilución seleccionada para cada uno de los antisueros será la del último tubo que presente una aglutinación clara.

El suero anti-H puede usarse en forma pura o en una dilución 1:2 .

d.- Muestras.

Se prepararon muestras de sangre seca de los tres grupos "A", "B" y "O" de la siguiente manera :

Se absorbieron muestras de sangre de los tres grupos en fragmentos de tela, las cuales se sometieron a los siguién--tes parámetros ambientales :

Tiempo.

Exposición al aire y luz solar.

Exposición a altas temperaturas (no más de 60°C).

La determinación del grupo sanguíneo de estas muestras, se hizo en intervalos de tiempo de 15 días, obteniéndose muestras de 1 día hasta de 20 meses.

Estas muestras se emplearon para determinar el objetivo principal de este trabajo.

Se prepararon muestras de los tres grupos, de la misma forma mencionada arriba, sin someterlas a los parámetros mencionados, también se usaron algunas muestras del experimento

anterior, principalmente las de mayor tiempo, éstas se usaron para determinar el segundo objetivo .

TECNICAS .

Las técnicas empleadas en este trabajo son :

I.- ABSORCION-INHIBICION

II.- ABSORCION-ELUCION.

I.- ABSORCION-INHIBICION.

Consiste en la identificación de anticuerpos residuales, cuando se ponen en contacto el antígeno contenido en la muestra, con cada uno de los antisueros comerciales (anti-A, anti B y anti-H) que contienen anticuerpos. En caso de que el antígeno presente en la muestra, este en contacto con su anticuerpo homólogo, se llevará a cabo una absorción selectiva, formándose el complejo antígeno-anticuerpo, en la formación de este complejo se emplean casi todos los anticuerpos presentes, quedando una mínima cantidad residual, no así en los demás donde se realiza la formación de dicho complejo. Posteriormente al agregar glóbulos rojos conocidos, habrá aglutinación en las muestras en las que no hay formación del complejo (20).

El procedimiento de ambas técnicas se esquematizaran, por tal motivo se representan a continuación los elementos que intervienen :

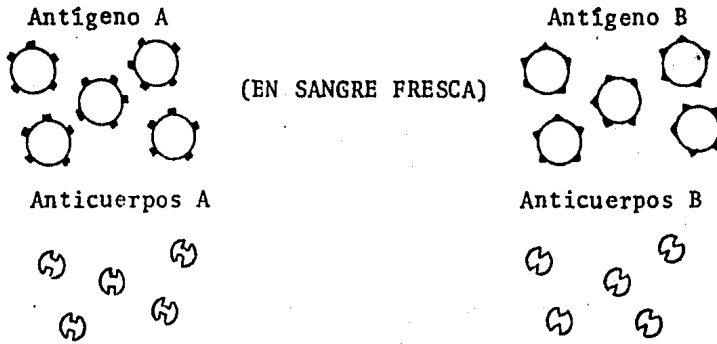
Antígeno A



(EN SANGRE SECA)

Antígeno B





Procedimiento :

1.- Se cortan tres fragmentos de aproximadamente 3 mm² de cada una de las manchas problemas y de los controles. Se coloca uno en cada tubo de la columna, como se indica en el siguiente cuadro :

	A	B	O	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄	P ₅	P ₆	P ₇	
(1) anti-A	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	G.R.grupo "A"
(2) anti-B	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	G.R.grupo "B"
(3) anti-H	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	G.R.grupo "O"

En la columna A, se colocan los fragmentos del control grupo "A"; en la columna B, los controles grupo "B"; en la columna O, los controles grupo "O"; en la columna P₁, los -- fragmentos del problema # 1; y así sucesivamente. La cantidad de tubos depende del número de muestras problemas.

Para mayor facilidad representaremos solamente una prue

ba positiva y una negativa, seleccionaremos dos tubos que serán el tubo # I y el tubo # II, los cuales de antemano se conoce el tipo de antígeno que contienen.

En este paso, está presente solamente el antígeno contenido en la muestra y se trata del antígeno tipo A :

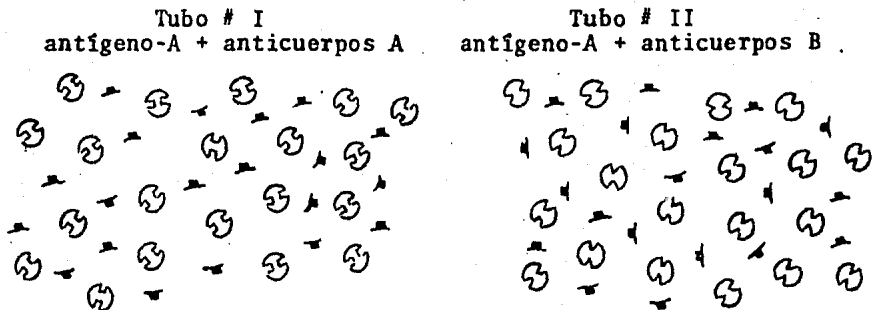


Se representa el antígeno de esta forma porque, se trabaja con sangre seca y los eritrocitos se encuentran lisados.

2.- Agregar a cada tubo de la hilera (I), tres gotas del suero anti-A; a la hilera (2), tres gotas del suero anti-B y a la hilera (3), tres gotas del suero anti-H.

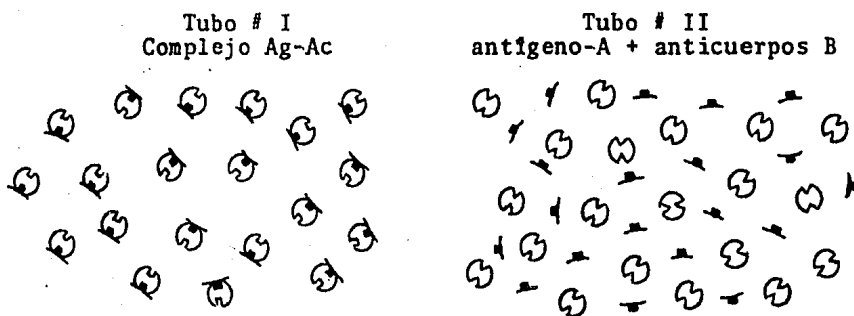
El tubo # 1 pertenece a la hilera (I) y el tubo # II a la hilera (2).

En este paso, se tiene en contacto al antígeno contenido en la muestra con los anticuerpos del antisuero.



3.- Dejar en refrigeración, durante toda la noche a 4°C.

En este paso, se tiene la formación del complejo antígeno-anticuerpo, en el caso de que el antígeno contenido en la muestra se encuentre con su anticuerpo homólogo contenido en el antisuero. Este complejo queda adherido en el fragmento de tela.



4.- Sacar cuidadosamente los fragmentos de tela de cada tubo, con ayuda de un aplicador de madera (usar uno diferente para cada tubo).

Al extraer el fragmento de tela, no sólo extraemos el antígeno, sino también, los anticuerpos homólogos unidos a este al formar el complejo antígeno-anticuerpo.

Tubo # I

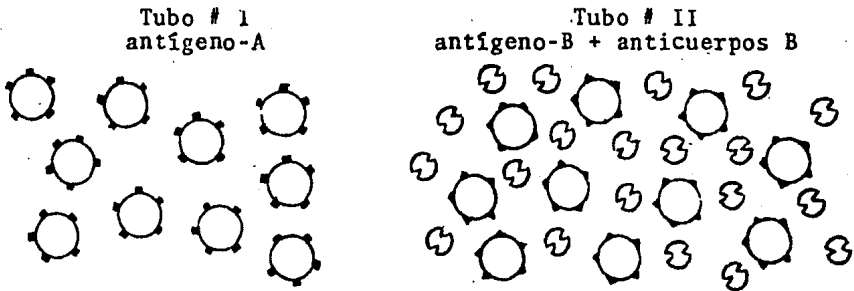
Tubo # II
anticuerpos B



5.- Agregar una gota de la suspensión al 2 % de glóbulos rojos de grupo sanguíneo conocido, en la siguiente forma :

Del grupo "A" a los tubos de la hilera (I); grupo "B" a la hilera (2) y grupo "O" a la hilera (3).

Ahora, se ponen en contacto los anticuerpos que no se unieron al antígeno, por no ser homólogos (paso # 3), con el antígeno de los glóbulos rojos.



Los antígenos se representan en esta forma, por que se trata de eritrocitos de sangre fresca.

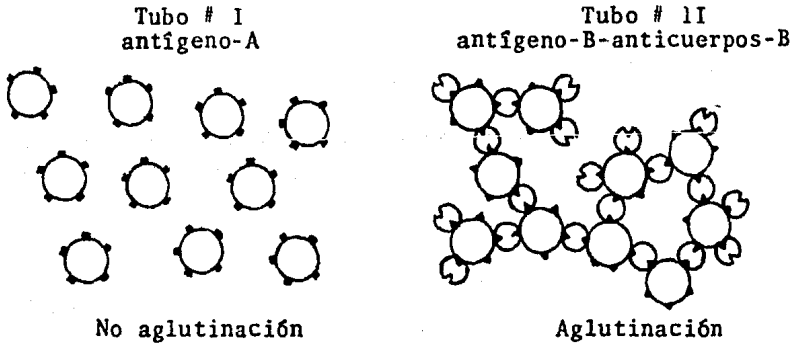
6.- Mezclar suavemente y centrifugar a 3 500 rpm., durante 15 segundos.

7.- Observar si hubo o no, aglutinación.

El tubo # I no presenta aglutinación, por que se encuentra presente solamente el antígeno contenido en los eritrocitos grupo "A".

El tubo # II si presenta aglutinación, debido a que estan presentes el antígeno de los eritrocitos grupo "B" y sus anticuerpos homólogos, y al ser observados macroscópicamente

se ven como un botón y al ser agitados suavemente se desprenden del fondo del tubo.



Interpretación :

Los resultados se presentan en el siguiente cuadro :

	A	B	O	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄	P ₅	P ₆	P ₇
(1)		+	+			+	+	+	+	
(2)	+		+	+	+	+		+	+	
(3)		+			+		+			+
	A ₁	B	O	A ₁	A ₂	O	B	O	O	AB

Es importante tener en cuenta la reactividad de los grupos ABO con respecto al suero anti-H, la cual es la siguiente en orden decreciente : O, A₂, B, A₁ y AB.

Tomando en cuenta esto y analizando los resultados, se observa que cuando se trata de sangre grupo "A", la aglutina-

ción se presenta en los tubos de la hilera (2) y dependiendo del subgrupo (A_1 o A_2) en la hilera (3).

En sangre grupo "B", la aglutinación se presenta en los tubos de las hileras (1) y (3).

En sangre grupo "O", la aglutinación se presenta en los tubos de las hileras (1) y (2).

Por último cuando se trata de sangre grupo "AB", la aglutinación se presenta en los tubos de la hilera (3).

II.- ABSORCION-ELUCION.

El material manchado (fragmento de tela con sangre seca) se pone en contacto con su anticuerpo homólogo y se favorece así una absorción específica, el excedente de anticuerpos se elimina por lavados con solución salina fría. El complejo antígeno-anticuerpo se disocia por calentamiento, al eluir el anticuerpo y ponerlo en contacto con eritrocitos de grupo sanguíneo conocido, se observa finalmente la presencia o ausencia de aglutinación (20).

Procedimiento :

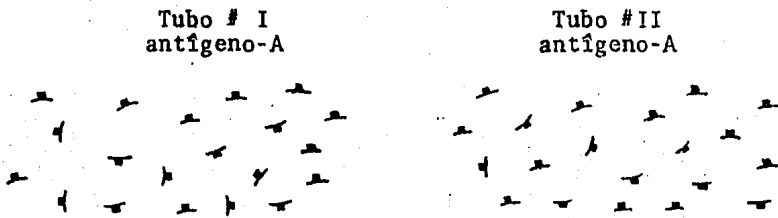
1.- Se cortan por triplicado fragmentos de aproximadamente 3 mm^2 de cada una de las manchas problemas y de los controles, se colocan uno en cada tubo de la columna, como se indica en el siguiente cuadro :

	A	B	O	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄	P ₅	P ₆	P ₇	
(1) anti-A	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	G.R. grupo "A"
(2) anti-B	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	G.R. grupo "B"
(3) anti-H	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	G.R. grupo "O"

En la columna A, se colocan los fragmentos del control grupo "A"; columna B, los controles grupo "B"; columna O, los controles grupo "O"; en la columna P₁, los fragmentos del problema # 1; y así sucesivamente. La cantidad de tubos depende del número de muestras problemas.

En esta técnica se representa una prueba positiva y una negativa, para lo cual se eligen dos tubos, que serán el tubo # I y el tubo # II, los cuales pertenecen a la columna A y a las hileras (1) y (2) respectivamente. De antemano se conoce el tipo de antígeno que contiene cada uno.

En este paso, se tiene presente solamente el antígeno-- contenido en la muestra absorbida en el fragmento de tela y se trata del antígeno grupo A.



2.- Fijar las manchas de sangre con metanol durante 15 minutos. Después de este tiempo eliminar el alcohol totalmente.

Lo que se persigue con esto, es fijar el antígeno a la tela. Al igual que en el paso anterior, se encuentra presente solamente el antígeno.

3.- Agregar a cada tubo de la hilera (1), dos gotas del suero anti-A; a la hilera (2), dos gotas del suero anti-B; a la hilera (3), dos gotas del suero anti-H.

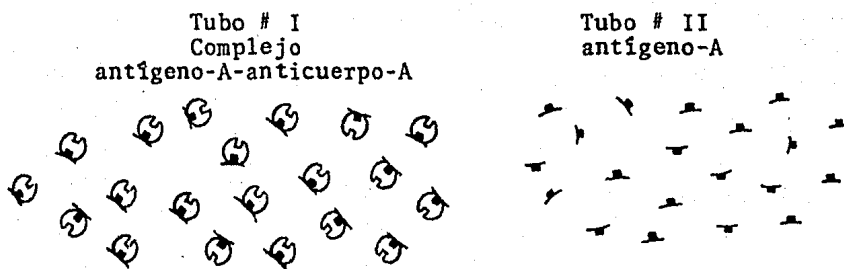
En este paso, se tiene en contacto el antígeno contenido en la muestra, con los anticuerpos de los antisueros.

4.- Dejar en refrigeración durante toda la noche a 4°C.

Se realiza la formación del complejo antígeno-anticuerpo, en el caso de que el antígeno contenido en la muestra se encuentre en contacto con su anticuerpo homólogo contenido en el antisuero. Este complejo queda adherido al fragmento de tela.

5.- Lavar todas las muestras con solución salina isotónica fría, 6 veces.

Con los lavados se extraen todos los anticuerpos que no se unieron al antígeno, por no ser homólogos, así como también los anticuerpos que están en exceso.

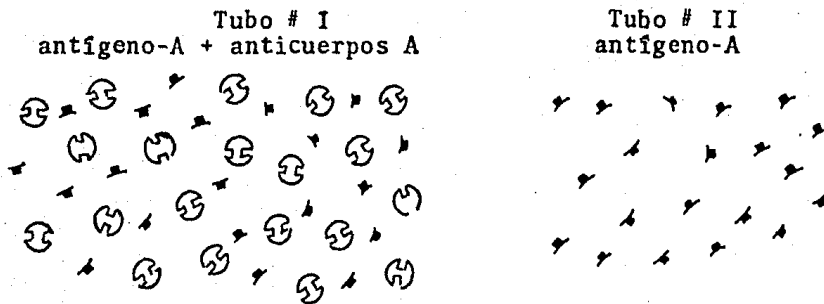


6.- Añadir a cada tubo dos gotas de solución salina a temperatura ambiente.

Con la adición de la solución salina se trata de tener un medio adecuado, para la solución que se efectuará en el siguiente paso.

7.- Colocar la gradilla que contiene los tubos con las muestras en el baño María a 56°C durante 15 minutos.

En este paso, se rompe la unión antígeno-anticuerpo por medio de calor, como se observa en el tubo # I, en el cual se tiene los anticuerpos suspendidos en la solución salina y el antígeno adherido al fragmento de tela. En el tubo # II se tiene solamente el antígeno adherido al fragmento de tela.



8.- Sacar cuidadosamente los fragmentos de tela de cada uno de los tubos, con ayuda de un aplicador de madera (usar uno diferente para cada tubo).

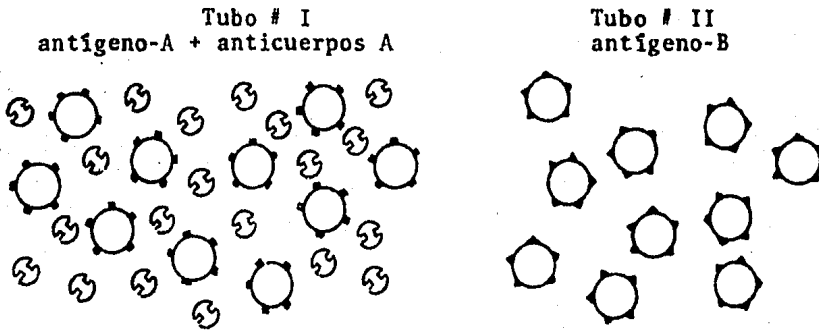
Al sacar el fragmento de tela, se extrae el antígeno que se encuentra adherido a esta, dejando en el tubo solamente los anticuerpos eluidos, como en el tubo # I. En el tubo # II está presente solamente la solución salina.

9.- Agregar una gota de una suspensión al 2 % de glóbulos rojos lavados y de grupo sanguíneo conocido, de la siguiente manera :

Del grupo "A", a los tubos de la hilera (1); grupo "B", a la hilera (2); grupo "O", a la hilera (3).

En este paso, se tiene en contacto a los anticuerpos

eluidos, con el antígeno contenido en los eritrocitos de la suspensión al 2 %, como se observa en el tubo # I. En el tubo # II solamente está presente el antígeno.

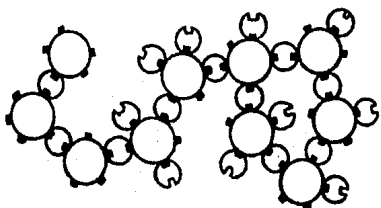


10.- Mezclar y centrifugar a 3 500 rpm., durante 15 segundos.

11.- Observar si hubo o no aglutinación.

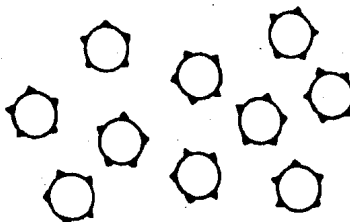
El tubo # I sí presenta aglutinación, debido a que están presentes el antígeno contenido en los eritrocitos y sus anticuerpos homólogos, los cuales al unirse, forman una especie de enrejado, el cual al ser observado macroscópicamente se ve como un botón que al ser agitado suavemente, se desprende del fondo del tubo. El tubo # II no presenta aglutinación, por que se encuentra presente solamente el antígeno contenido en los eritrocitos.

Tubo # I
antígeno-A-anticuerpos-A



aglutinación

Tubo # II
antígeno-B



no aglutinación

Interpretación :

Los resultados se presentan en el siguiente cuadro :

	A	B	O	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄	P ₅	P ₆	P ₇
(1)	+			+		+		+		
(2)		+					+	+		
(3)			+	+	+				+	+
	A ₁	B	O	A ₂	O	A ₁	B	AB	O	O

Analizando los resultados se observa que cuando se trata de sangre grupo "A", la aglutinación se presenta en los tubos de la hilera (1) y dependiendo del subgrupo (A₁ o A₂) se puede presentar también en los tubos de la hilera (3).

En sangre grupo "B", la aglutinación se presenta en los tubos de la hilera (2) y (3).

En sangre grupo "O", la aglutinación se presenta en los tubos de la hilera (3).

Por último cuando se trata de sangre grupo "AB", la ---
aglutinación se presenta en los tubos de la hilera (1) y (2).

CAPITULO V

RESULTADOS

RESULTADOS.

Los resultados obtenidos se presentan en los siguientes cuadros :

ABSORCION-ELUCION

	1			2			3			4			5		
	A	B	O	A	B	O	A	B	O	A	B	O	A	B	O
(1)	4+	-	-	4+	-	-	4+	-	-	4+	-	-	4+	-	-
(2)	-	4+	-	-	3+	-	-	3+	-	-	4+	-	-	4+	-
(3)	-	-	3+	-	-	3+	-	-	3+	-	-	3+	-	-	3+
	6			7			8			9			10		
	A	B	O	A	B	O	A	B	O	A	B	O	A	B	O
(1)	4+	-	-	4+	-	-	4+	-	-	4+	-	-	4+	-	-
(2)	-	4+	-	-	4+	-	-	4+	-	-	3+	-	-	4+	-
(3)	-	-	3+	-	-	3+	-	-	3+	-	-	4+	-	-	3+
	11			12			13			14			15		
	A	B	O	A	B	O	A	B	O	A	B	O	A	B	O
(1)	4+	-	-	4+	-	-	4+	-	-	3+	-	-	4+	-	-
(2)	-	4+	-	-	4+	-	-	3+	-	-	3+	-	-	3+	-
(3)	-	-	3+	-	-	4+	-	-	3+	-	-	3+	-	-	3+
	16			17			18			19			20		
	A	B	O	A	B	O	A	B	O	A	B	O	A	B	O
(1)	3+	-	-	4+	-	-	4+	-	-	4+	-	-	4+	-	-
(2)	-	4+	-	-	4+	-	-	3+	-	-	4+	-	-	4+	-
(3)	-	-	4+	-	-	3+	-	-	3+	-	-	4+	-	-	4+
	21			22			23			24			25		
	A	B	O	A	B	O	A	B	O	A	B	O	A	B	O
(1)	3+	-	-	4+	-	-	4+	-	-	4+	-	-	4+	-	-
(2)	-	3+	-	-	4+	-	-	4+	-	-	4+	-	-	4+	-
(3)	-	-	3+	-	-	3+	-	-	3+	-	-	3+	-	-	3+
	26			27			28			29			30		
	A	B	O	A	B	O	A	B	O	A	B	O	A	B	O
(1)	4+	-	-	4+	-	-	3+	-	-	3+	-	-	4+	-	-
(2)	-	3+	-	-	2+	-	-	3+	-	-	3+	-	-	3+	-
(3)	-	-	3+	-	-	3+	-	-	3+	-	-	3+	-	-	3+
	31			32			33			34			35		
	A	B	O	A	B	O	A	B	O	A	B	O	A	B	O
(1)	4+	-	-	4+	-	-	4+	-	-	3+	-	-	3+	-	-
(2)	-	3+	-	-	3+	-	-	4+	-	-	4+	-	-	4+	-
(3)	-	-	3+	-	-	4+	-	-	4+	-	-	4+	-	-	3+
	36			37			38			39			40		
	A	B	O	A	B	O	A	B	O	A	B	O	A	B	O
(1)	4+	-	-	4+	-	-	3+	-	-	4+	-	-	4+	-	-
(2)	-	4+	-	-	4+	-	-	3+	-	-	4+	-	-	3+	-
(3)	-	-	3+	-	-	3+	-	-	4+	-	-	3+	-	-	3+

ABSORCION-INHIBICION.

	1			2			3			4			5		
	A	B	O	A	B	O	A	B	O	A	B	O	A	B	O
(1)	-	2+	2+	-	3+	2+	-	3+	3+	-	4+	3+	-	4+	3+
(2)	4+	-	2+	3+	-	2+	3+	-	3+	4+	-	3+	4+	-	3+
(3)	-	-	-	-	3+	-	-	3+	-	-	3+	-	-	3+	-
	6			7			8			9			10		
	A	B	O	A	B	O	A	B	O	A	B	O	A	B	O
(1)	-	3+	3+	-	3+	3+	-	3+	3+	-	3+	3+	-	3+	1+
(2)	4+	-	3+	4+	-	3+	4+	-	3+	4+	-	3+	4+	-	3+
(3)	-	3+	-	-	3+	-	-	-	-	-	3+	-	-	2+	-
	11			12			13			14			15		
	A	B	O	A	B	O	A	B	O	A	B	O	A	B	O
(1)	-	-	3+	-	4+	3+	-	3+	3+	-	3+	3+	-	3+	3+
(2)	4+	-	3+	4+	-	2+	3+	-	3+	3+	-	3+	4+	-	3+
(3)	-	-	-	-	2+	-	-	-	-	-	3+	-	-	3+	-
	16			17			18			19			20		
	A	B	O	A	B	O	A	B	O	A	B	O	A	B	O
(1)	-	3+	3+	-	4+	4+	-	4+	3+	-	4+	3+	-	4+	3+
(2)	4+	-	3+	4+	-	4+	3+	-	3+	4+	-	3+	4+	-	3+
(3)	-	2+	-	-	2+	-	-	-	-	-	3+	-	-	3+	-
	21			22			23			24			25		
	A	B	O	A	B	O	A	B	O	A	B	O	A	B	O
(1)	-	3+	3+	-	3+	3+	-	2+	3+	-	3+	3+	-	3+	3+
(2)	3+	-	3+	2+	-	3+	3+	-	3+	3+	-	3+	3+	-	3+
(3)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	26			27			28			29			30		
	A	B	O	A	B	O	A	B	O	A	B	O	A	B	O
(1)	-	-	2+	-	3+	3+	-	3+	3+	-	4+	3+	-	4+	3+
(2)	2+	-	2+	3+	-	3+	2+	-	3+	3+	-	3+	3+	-	3+
(3)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	31			32			33			34			35		
	A	B	O	A	B	O	A	B	O	A	B	O	A	B	O
(1)	-	3+	2+	-	3+	3+	-	3+	3+	-	2+	2+	-	3+	3+
(2)	3+	-	2+	2+	-	3+	3+	-	3+	3+	-	2+	3+	-	3+
(3)	-	3+	-	-	3+	-	-	2+	-	-	-	-	-	3+	-
	36			37			38			39			40		
	A	B	O	A	B	O	A	B	O	A	B	O	A	B	O
(1)	-	3+	3+	-	3+	3+	-	3+	3+	-	3+	3+	-	3+	3+
(2)	3+	-	3+	4+	-	3+	4+	-	3+	3+	-	3+	3+	-	3+
(3)	-	2+	-	-	2+	-	-	3+	-	-	2+	-	-	3+	-

Nota : La interpretación de estos resultados, es por medio de cruces, de 0 a 4 cruces. Tomándose como prueba positiva con 3 o 4 cruces y como negativa las que tienen menos de 3 cruces (20).

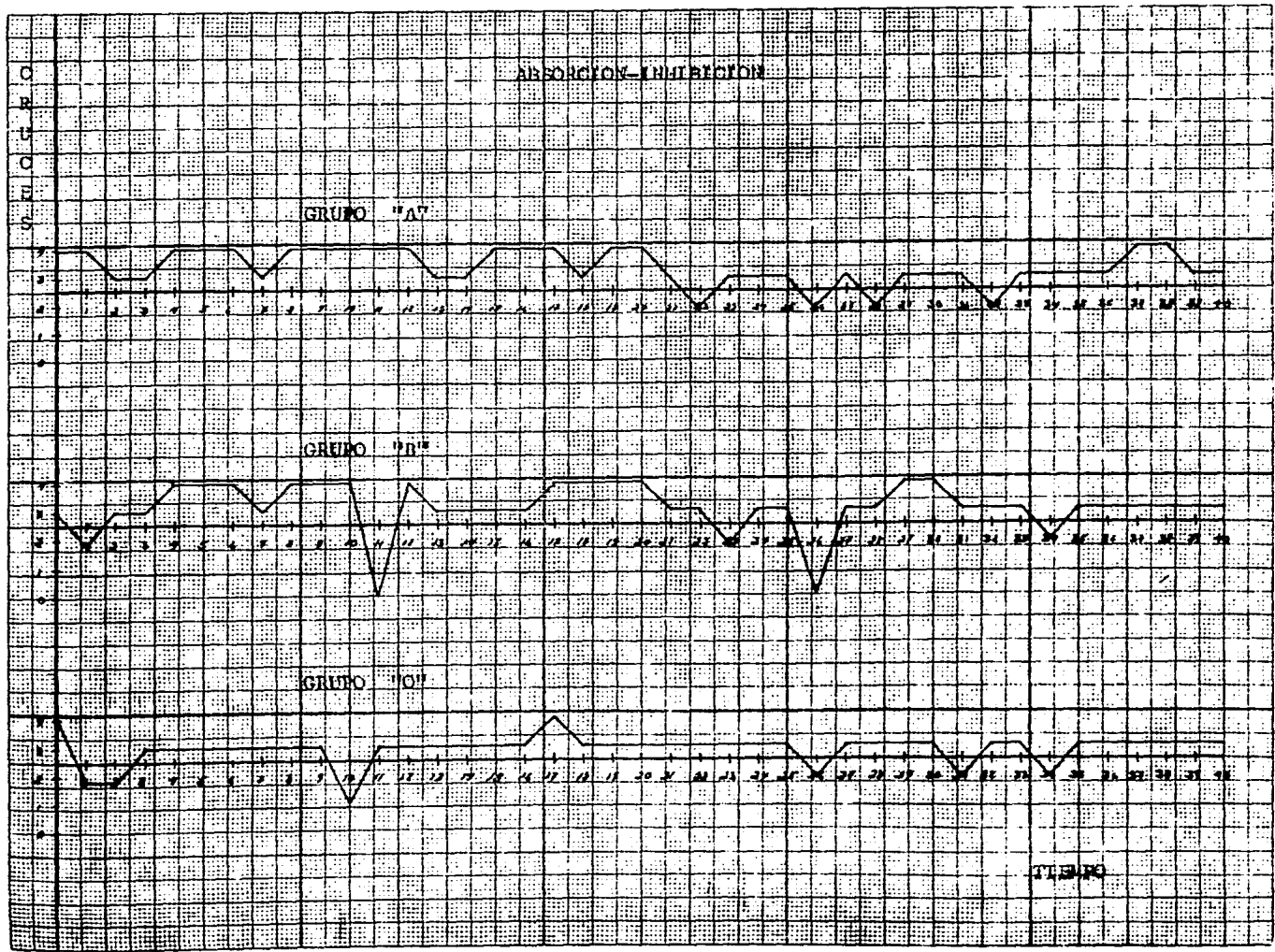
El número de muestras Tipificadas, fue de 40 da cada grupo y el tiempo que tienen cada una es el siguiente :

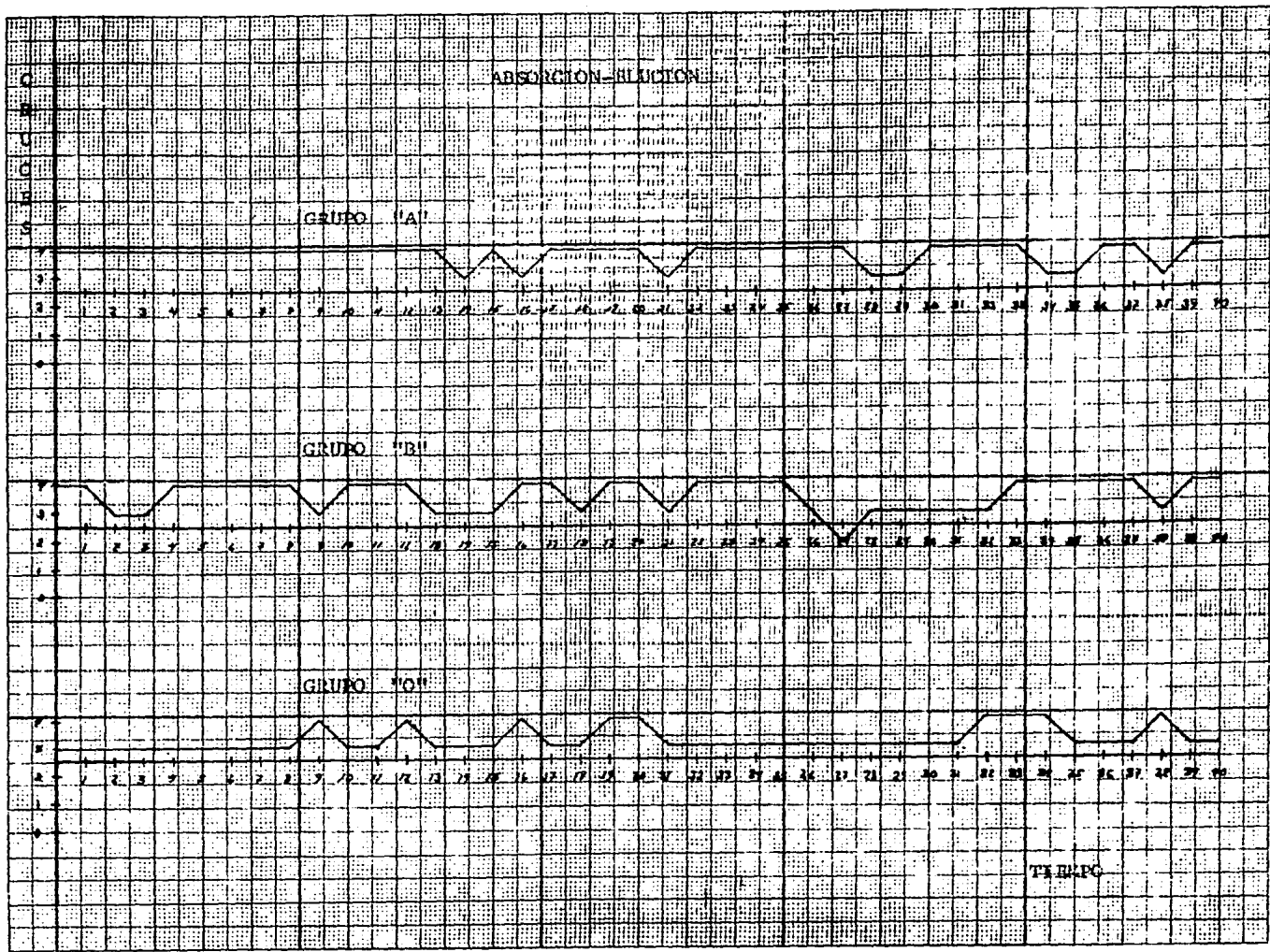
- 1.- Muestras de quince dias.
- 2.- Muestras de un mes.
- 3.- Muestras de mes y medio.
- 4.- Muestras de dos meses.
- 5.- Muestras de dos meses y medio.
- 6.- Muestras de tres meses.
- 7.- Muestras de tres meses y medio.
- 8.- Muestras de cuatro meses.
- 9.- Muestras de cuatro meses y medio.
- 10.- Muestras de cinco meses.
- 11.- Muestras de cinco meses y medio.
- 12.- Muestras de seis meses.
- 13.- Muestras de seis meses y medio.
- 14.- Muestras de siete meses.
- 15.- Muestras de siete meses y medio.
- 16.- Muestras de ocho meses.
- 17.- Muestras de ocho meses.
- 18.- Muestras de nueve meses.
- 19.- Muestras de nueve meses y medio.

- 20.- Muestras de diez meses.
- 21.- Muestras de diez meses y medio.
- 22.- Muestras de once meses.
- 23.- Muestras de once meses y medio.
- 24.- Muestras de doce meses.
- 25.- Muestras de doce meses y medio.
- 26.- Muestras de trece meses.
- 27.- Muestras de trece meses y medio.
- 28.- Muestras de catorce meses.
- 29.- Muestras de catorce meses y medio.
- 30.- Muestras de quince meses.
- 31.- Muestras de quince meses y medio.
- 32.- Muestras de dieciséis meses.
- 33.- Muestras de dieciséis meses y medio.
- 34.- Muestras de diecisiete meses.
- 35.- Muestras de diecisiete meses y medio.
- 36.- Muestras de dieciocho meses.
- 37.- Muestras de dieciocho meses y medio.
- 38.- Muestras de diecinueve meses.
- 39.- Muestras de diecinueve meses y medio.
- 40.- Muestras de veinte meses.

Durante la tipificación de las muestras, se colocaron testigos conocidos recién preparados.

Para una mejor observación de los resultados, estos se graficaron.





Resultados obtenidos en la Tipificación del grupo sanguíneo en forma repetida en una misma muestra.

ABSORCION-ELUCION

	A	B	O		A	B	O		A	B	O		A	B	O		A	B	O
(1)	4+	-	-		4+	-	-		4+	-	-		4+	-	-		4+	-	-
(2)	-	4+	-		-	4+	-		-	4+	-		-	3+	-		-	3+	-
(3)	-	-	3+		-	-	4+		-	-	3+		-	-	3+		-	-	3+
	A	B	O		A	B	O		A	B	O		A	B	O		A	B	O
(1)	3+	-	-		4+	-	-		4+	-	-		3+	-	-		3+	-	-
(2)	-	3+	-		-	3+	-		-	3+	-		-	3+	-		-	-	-
(3)	-	-	3+		-	-	3+		-	-	3+		-	-	3+		-	-	3+
	A	B	O		A	B	O		A	B	O		A	B	O		A	B	O
(1)	3+	-	-		3+	-	-		-	-	-		-	-	-		-	-	-
(2)	-	3+	-		-	-	-		-	-	-		-	-	-		-	-	-
(3)	-	-	3+		-	-	-		-	-	-		-	-	-		-	-	-

Para obtener estos, se trabajo con un mínimo de 10 muestras de cada grupo o sea un total de 30 muestras. Los resultados aquí expuestos son solamente de tres muestras, los cuales son representativos del total de muestras trabajadas.

Para una mejor observación de los resultados, éstos se --
graficaron.

REPLICACION REPRITIDA DE UN MUESTRA

ABSORCION ELUCTION

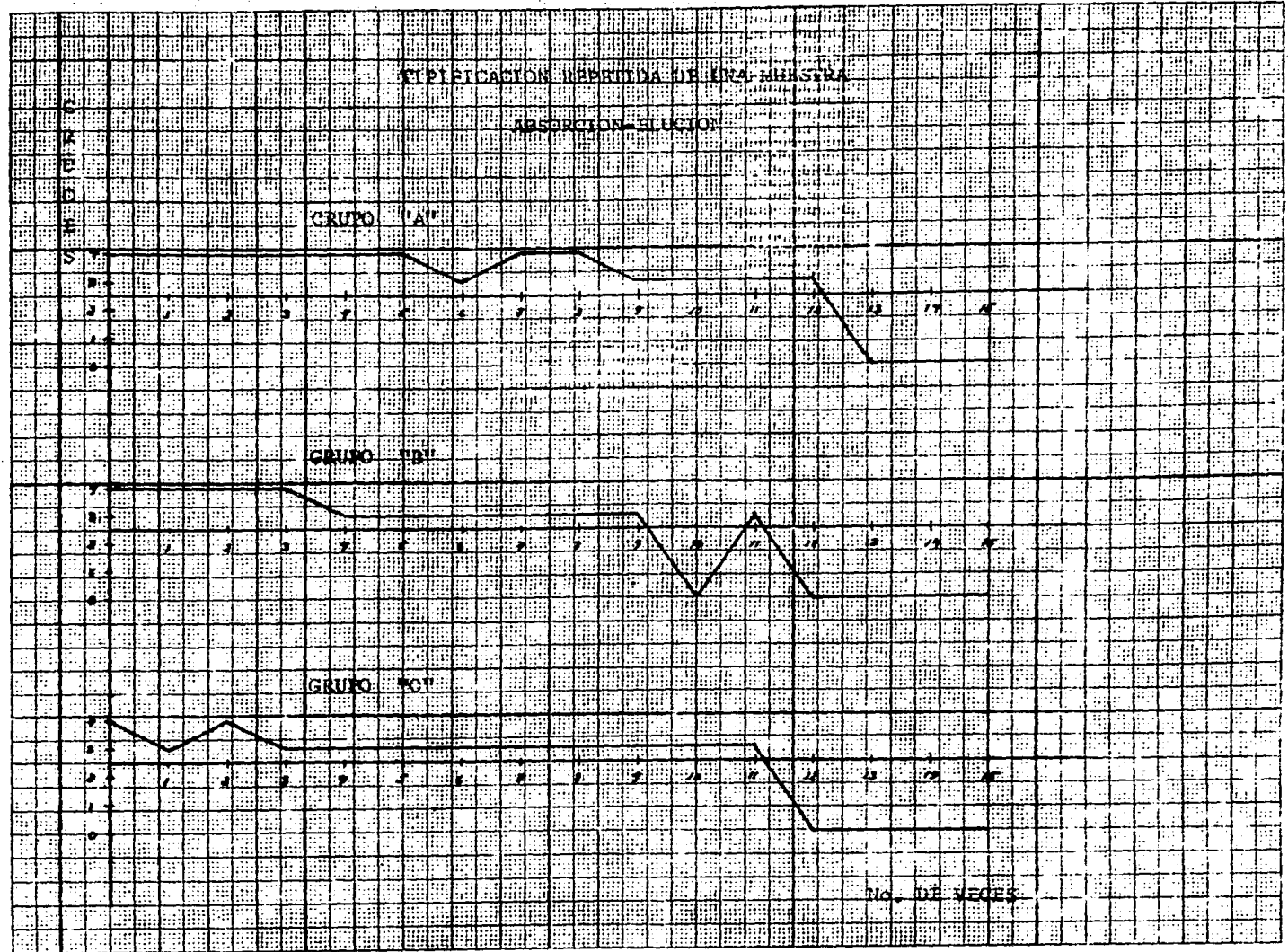
VOLUMEN

GRUPO "A"

GRUPO "B"

GRUPO "C"

No. DE VECES



CAPITULO VI

COMENTARIOS

COMENTARIOS.

Los comentarios que a continuación se hacen, están fundados en la experiencia adquirida durante la realización de este trabajo.

- Para la Tipificación del grupo sanguíneo en manchas de sangre seca, es suficiente emplear solamente dos antisue-
ros (anti-A y anti-B) y sólo en casos dudosos usar el suero anti-H. Debido a que el suero anti-H es el más caro y la con
centración a la cual se usa es de 1:2 o pura.

- En la técnica de ABSORCION-ELUCION se usan los anti--
sueiros con una dilución de 1:10 (20), la cual para el uso que
tienen, está muy concentrada, por lo que, se debe emplear di
luciones 1:20 o 1:30 o realizar una titulación como la que
se realiza en la técnica de ABSORCION-INHIBICION.

- Los antisueiros se cambian cada tres meses, con el fin
de obtener mejores resultados. En el caso de la técnica de
ABSORCION-INHIBICION, titular para encontrar la dilución óp-
tima, debido a que la concentración de cada antisuero varía
a pesar de que sean de la misma marca o casa comercial.

- En la técnica de ABSORCION-INHIBICION, no se fijan las
muestras con metanol (20), ésto trae como consecuencia, que
durante la realización de la técnica se desprenda la muestra
del fragmento de tela, por lo que al final no se observa una
aglutinación clara. Por esto se debe de fijar las mue
stras

con metanol, para evitar esta interferencia.

- En los casos en los cuales la muestra sea escasa, los fragmentos de tela con la muestra en estudio, deben ser conservados y ordenados, esto con el fin de que si el resultado obtenido es dudoso, se realice una segunda prueba con las mismas muestras.

- Al Tipificar el grupo sanguíneo en forma repetida en una misma muestra, el problema que se presenta es que la muestra se va desprendiendo del fragmento de tela, conforme aumenta el número de veces que se hace. Esto se puede evitar un poco, fijando la muestra con metanol, cada vez que se realice dicha tipificación.

- Cuando una persona no tenga experiencia en la tipificación del grupo sanguíneo en sangre seca, debe emplear la técnica de ABSORCION-ELUCION y solo cuando cuente con cierta experiencia usar la técnica de ABSORCION-INHIBICION.

CAPITULO VII

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES.

1.- Los resultados obtenidos en la Tipificación del grupo sanguíneo, de muestras que tengan tiempo prolongado en relación a los hechos, son confiables, siempre y cuando no hayan estado expuestas a condiciones ambientales drásticas. En este trabajo se obtuvieron resultados satisfactorios con muestras de 20 meses.

2.- Los resultados obtenidos en la Tipificación del grupo sanguíneo en forma repetida en una misma muestra, son confiables las seis primeras veces. En este trabajo se obtuvieron resultados positivos hasta en 12 repeticiones con muestras del grupo "A" y 11 repeticiones con muestras del grupo "B" y "O". Se menciona un rango de 6, debido a la explicación dada en los comentarios.

3.- En este estudio, se obtuvieron resultados más confiables, con la técnica de ABSORCION-ELUCION, que con la técnica de ABSORCION-INHIBICION. Por lo cual esta última sólo deberá emplearse en casos especiales (resultados en un corto tiempo).

B I B L I O G R A F I A

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Applied Blood Group Serology,
Spectra Biologicals
Becton Dickinson and Company.
Oxnard California.
- 2.- Barret James T.
Inmunología
Editorial Interamericana, 1976.
1a. Edición.
- 3.- Bellanti Joseph A.
Inmunología II
Editorial Interamericana, 1981.
2a. Edición.
- 4.- Boyd Willians C.
Fundamentals of Immunology
Interscience Publishers,
New York, cap., V
- 5.- Cartas H. Ma. Georgina
Tipificación del Grupo Sanguíneo en Cabellos
Tesis, 1975.
- 6.- Calliford, Brian
The Examination and Typing of
Bloodstains in The Crime.
Laboratory NICEJ. LEAA U.S.
Department of Justice.
- 7.- Gordon Benjamin Lee
Lo esencial de la Inmunología
Editorial El Manual Moderno
2a. Edición.
- 8.- Harper Harold A.
Manual de Química Fisiológica
Editorial El Manual Moderno, 1978.
6a. Edición, cap., 32.

- 9.- Hilman, Robert
Manual de Hematología
Editorial El Manual Moderno, 1977.
- 10.- Kabat Mayer
Inmunoquímica Experimental
Editorial Prensa Médica, 1978.
2a. Edición.
- 11.- Leavell, Thorup
Hematología Clínica
Editorial Interamericana, 1976.
2a. Edición.
- 12.- Lehninger
Bioquímica
Editorial Omega
2a. Edición.
- 13.- López L. G. y Gisbert
Tratado de Medicina Legal
Editorial Saber, España.
Vol., I y II, pags., 90-146
- 14.- Manzur, Harrow
Bioquímica Básica
Editorial Interamericana, 1973.
3a. Edición, pag. 700
- 15.- Mollison P. L.
Transfusión Sanguínea, Aspectos Clínicos.
Editorial Prensa Médica, caps., IV y V.
- 16.- Moreño L. R.
Manual de Introducción a la Criminalística
Editorial Porrúa, 1977.
- 17.- Morrison, Boyd
Química Orgánica
Editorial Fondo Educativo Interamericano.
- 18.- Ortho Pharmaceutical Corp.,
Raritan, New Jersey.
"ABO" Ortho Diagnostic Antiserum.

- 19.- Outteridge, Curry
Metods in Forensic Science II
Interscience Publishers, 1960.
New York.
- 20.- Procuraduría Gral. de Justicia del D.F.
Manual de Técnicas de Laboratorio.
- 21.- Prokop, Otto, and Gerbard Uhlen Bruck
Human Blood and Serum Groups
Wiley Interscience, 1969.
New York.
- 22.- Race y Sanger
Los Grupos Sanguíneos Humanos
Editorial Prensa Médica, 1975.
2a. Edición.
- 23.- Rapaport S. I.
Introduction a The Hematology
Editorial Harper and Row, 1971.
New York, 2a. Edición.
- 24.- Roman Barrios Alicia
Componentes de la Sangre en General
desde el Punto de Vista Químico Legal.
Tesis, 1980.
- 25.- Simonin, Camilo
Medicina Legal Judicial
Editorial JIMS, 1972.
Barcelona España.
- 26.- Snyder, Lemoyne
Investigación de Homicidios
Editorial Limusa, 1978.
México.
- 27.- Stewart Sell
Inmunología, Immunopatología e Inmunidad
Editorial Harper and Row Latinoamericano
caps., V y VI pags., 66-111.

- 28.- Willians Rojas M.
Inmunología
Editorial Fondo Educativo Interamericano.
6a. Edición.
- 29.- Willians S. J.
Hematology
Editorial Mc. Grow Grill, 1972.
New York, 2a. Edition.