

HEMATOLOGIA FORENSE





SEROLOGÍA FORENSE

MANCHAS DE SANGRE

EN ROPAS, OBJETOS E INSTRUMENTOS	Identifica los instrumentos usados en el ilícito Localiza los lugares de los hechos y en donde se cometieron los ilícitos. Ayuda a conocer las circunstancias de la comisión de un hecho contra personas. Elimina a sospechosos Comprueba y verifica coartadas o versiones sospechosas
COLECCIÓN DE LA MÁCULA	Si se encuentran en ropa o telas, se embalarán evitando posibles contaminaciones. Cuando sean de fuentes diferentes en un mismo lugar, se embalarán separadamente Secar las manchas frescas en un medio seco y ventilado sin exposición al sol o al calor para evitar la putrefacción
UTILIDAD	Ofrecen posibilidades de reconstrucción del mecanismo de los hechos. Se encuentran por largo tiempo en superficies adherentes como la piel, ropas, muros, madera, pisos, ropas, etcétera Difícilmente permanecen en el metal, cristal, porcelana, superficies pulidas, enceradas o barnizadas
RASTREO	Con luz rasante u oblicua con filtros que contrastan a la marcha con el soporte. Luz ultravioleta en la oscuridad es un medio de gran utilidad Se encontrarán lagos hemáticos en zonas en declive, observando que la sangre ante-mortem se encuentra coagulada entre los 5 a 8 primeros minutos, mientras que la sangre post-mortem deseca sin coagulación La sangre arterial se proyecta en chorro con una fase de dispersión, en tanto que la sangre venosa escurre; la sangre menstrual contiene placas de la mucosa uterina evidenciables como láminas planas con núcleo pequeño y redondo ante la tinción con azul de metileno en la microscopía. Toda sangre proveniente de una lesión, contendrá elementos hísticos de donde proviene

MACULACIÓN HEMÁTICA POR DISTANCIA Y PLANO DE SOPORTE

PLANO INCLINADO	Sin movimiento de la persona con un escurrimiento ancho en el inicio de contacto que va adelgazando en su camino de caída, dejando el extremo distal alargado
PLANO HORIZONTAL	Animadas o con movimiento lento en su caída que presenta estrías en sus lados que indican dirección Animadas con movimiento rápido presentan una estría o alargamiento que indican dirección del movimiento Goteo ininterrumpido forma una franja que desplaza estrías laterales flameadas con acumulo hemático en el extremo distal
PLANO VERTICAL	Son dinámicas, alargadas con salpicaduras laterales. El escurrimiento aloja al volumen en su porción distal o inferior, generalmente producidas por arterias lesionadas

ESTRUCTURA DEL TEJIDO SANGUÍNEO

PARTÍCULAS SÓLIDAS (en un 50% para el Valle de México)	Eritrocitos: células sin núcleos a razón de 4.5 a 5 millones por milímetro cúbico, que contienen su interior a la hemoglobina, sodio y potasio entre otras sustancias y en su membrana o estroma, se encuentran fosfolípidos, enzimas, los antígenos de los grupos sanguíneos o aglutinógenos más importantes correspondiendo primero al sistema ABO y después el sistema Rh ⁰ D Leucocitos: conocidos también como glóbulos blancos en una proporción de 5 a 10 mil por milímetro cúbico, y que son considerados como medios de defensa que producen varios anticuerpos, que incluyen los anticuerpos de grupo sanguíneo Plaquetas: o trombocitos con relación de 200 a 400 mil por milímetro cúbico, participantes en la coagulación de la sangre
---	---

Estroma del eritrocito (100 a 200Å)	
ABO Rh ^o D	
Fosfolípidos Proteínas	
FRACCIÓN LÍQUIDA O PLASMA (ocupa el 55% de su volumen)	Esta fracción contiene proteínas y sales inorgánicas como son: Proteínas: precipitinas, fibrinógeno, albúminas, globulinas, hemoglobina y haptoglobinas Globulinas: IgM, IgA, IgG, IgD e IgE Suero: fracción líquida obtenida después de la coagulación de la sangre extravasada, y por lo tanto, se encuentra desprovista de fibrinógeno Enzimas: son utilizadas para individualizar una muestra de sangre por su frecuencia en la población, tales como la fosfoglucomatasa, fosfatasa ácida eritrocitaria, adenilkinasa y la 6-fosfogluconato deshidrogenasa
RECOLECCIÓN Y EMBALAJE DE LAS MUESTRAS DE SANGRE	
SANGRE LÍQUIDA	Mediante pipeta Pasteur o gotero se tomará la muestra y se colocará dentro de un tubo de ensayo estéril con 1ml de solución salina por cada 5ml de sangre
COÁGULOS	Se toma con un aplicador estéril de madera y se colocará dentro de un tubo de ensayo estéril con 1ml de solución salina por cada 5ml de sangre
MANCHAS EN OBJETOS SÓLIDOS	Se levantará mediante fragmentos estériles de tela blanca de 2 x 2 cm. humedecidos en solución salina al 85% y se colocarán dentro de un tubo de ensayo estéril y se tomará una muestra control del soporte no maculado
TELAS MACULADAS	Se recortarán áreas representativas de 2 x 2 cm. y otro segmento control de la tela no manchada, y se colocarán dentro de un tubo de ensayo estéril
SOBRE VEGETALES	Se recortarán y se colocarán dentro de un sobre, agregando una porción del vegetal no manchada que se embalará en otro sobre
EN TIERRA O ARENA	Se recortará un trozo completo de soporte, que se colocará dentro de una bolsa plástica o en caja de cartón y por separado una muestra no impregnada
EN CABELLOS	Se tomarán con pequeñas pinzas protegidas sus puntas con caucho y se depositarán para su traslado en bolsas pequeñas de plástico
CUERPO DE LA VÍCTIMA	Se levantará mediante fragmentos estériles de tela blanca de 2 x 2 cm humedecidos en solución salina al 85% de las manchas hemáticas de la víctima y se aquellas que se sospeche que no sean de su propia sangre, y se colocarán dentro de un tubo de ensayo estéril y se tomará una muestra control de sangre venosa del cadáver y se colocará dentro de un tubo de ensayo estéril con 1ml de solución salina por cada 5ml de sangre
ETIQUETAMIENTO	Todos los contenedores de muestras les agregará una etiqueta firmemente adherida con los siguientes datos: 1. Número de averiguación o expediente; 2. Fecha y hora en que se recolectó la muestra; 3. Sitio de donde se tomo la muestra; 4. Naturaleza presunta del indicio; 5. Nombre del investigador que hizo el levantamiento y el embalaje Se deberá anotar en una bitácora los datos de las diferentes etiquetas para que se tome firma y sello del Agente del Ministerio Público que recibe
METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN CRIMINALÍSTICA EN SANGRE	
TÉCNICAS DE ORIENTACIÓN	Reacción de bencidina Reacción de la fenoftaleína reducida Reacción de leuco-malaquita verde Técnicas espectroscópicas
TÉCNICAS DE CONFIRMACIÓN	Cristales de hemina Cristales de hemocromógeno

TÉCNICAS PARA DETERMINAR EL ORIGEN	Reacción de las precipitinas en capilar Inmunolectroforesis cruzada
DETERMINACIÓN DEL GRUPO	En sangre fresca. En manchas de sangre seca.
DETERMINACIÓN DE ENZIMAS Y PROTEÍNAS	Isoenzimas y proteínas
TÉCNICAS DE ORIENTACIÓN	
REACCIÓN DE LA BENCIDINA O TÉCNICA DE ADLER	
FUNDAMENTO	<p>Las peroxidases (catalasas) son enzimas catalíticas en las reacciones de oxidación en la descomposición de los peróxidos con la liberación de radicales oxidrilo (-OH)</p> <p>La actividad enzimática del grupo "hem", cataliza la ruptura del peróxido de hidrógeno en ausencia de otras sustancias orgánicas oxidantes que al reaccionar con la bencidina, se obtiene un compuesto de color azul intenso (bencidina azul oxidada)</p> <p>La muestra problema se pasa a un tubo con 2ml de solución madre de fenoftaleína y se calienta a 100°C. durante un minuto añadiendo unas gotas de reactivo de bencidina y poco después agua oxigenada para obtener un color rosa brillante (prueba +)</p> <p>El grupo hem de la hemoglobina posee esa actividad enzimática que puede catalizar la ruptura del peróxido de hidrógeno, descomponiendo el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno, que al reaccionar con bencidina, la oxidarán un compuesto de color azul intenso considerada como positiva con una sensibilidad de 1,300,000 a 500,000 para la identificación de sangre; el resultado negativo excluye a la sangre, pero al ser positiva se requiere como toda técnica de orientación puede resultar falsa ante materiales oxidantes como por ejemplo:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Plantas: albaricoque, alcachofa, espárrago, frijol, manzana, nabo, papa, remolacha y zarzamora • Productos biológicos: hígado, intestino, leucocitos, médula ósea, moco, pulmón, pus, saliva • Otras sustancias: algunos blanqueadores, dicromatos, estiércol, formol, permanganato de potasio y sulfato de cobre
PREPARACIÓN	<ul style="list-style-type: none"> • Solución de bencidina: Disolver 125 g. de bencidina en 175 ml de etanol y se agregan de 5 a 10 gotas de ácido acético glacial que se deberá guardar en refrigeración en frasco ámbar en tanto se utiliza • H₂O₂ al 3% en frasco gotero ámbar
PROCEDIMIENTO	Se frota sobre la mancha problema con un hisopo con agua destilada y se le añaden de una a dos gotas de bencidina, que si no se observa coloración, se le agrega el H ₂ O ₂ , que virará al azul en caso de positividad
TÉCNICA DE KASTLE-MAYER O DE LA FENOFTALEINA	
FUNDAMENTO	<p>Se rige bajo el mismo principio de la reacción de Adler, solamente que la fenoftaleína debe de ser reducida previamente a fenoftaleína incolora, que por su labilidad deberá ser almacenado en frasco ámbar en refrigeración, se trabaja en un medio alcalino en vez de un medio ácido y se efectuará un calentamiento previo a 100°C. durante un minuto</p> <p>Las peroxidases vegetales se inactivan ante calentamiento a 100°C., mientras que las animales son estables aún después de meses; las peroxidases vegetales reaccionan ante medio ácido pero no en alcalino como la animal, por lo que se deberán realizar pruebas testigo sin añadir agua oxigenada y solamente se toma como prueba presuntiva a la positiva y es sensible de 1:1,000,000 a 10,000,000</p>

PREPARACIÓN	<ul style="list-style-type: none"> • Solución de fenofaleína: disolver 2g. de fenofaleína junto con 20g. de hidróxido de potasio, 100ml de agua destilada y colocarlas a reflujo en 20 g. de polvo de zinc hasta completar la decoloración, para ser guardada en refrigeración en frasco ámbar • Solución de trabajo: diluir la solución madre en una relación de 1:5 con etanol y refrigerarla hasta su uso • Solución de agua oxigenada al 3%
PROCEDIMIENTO	Frotar la muestra problema mediante un hisopo con solución fisiológica y pasarlo a un tubo de ensayo estéril de 2ml y añadir la solución fisiológica y calentar a 100°C. y añadir unas gotas de reactivo; en caso positivo se obtendrá un color rosa brillante
TÉCNICA DE LA LEUCOMALAQUITA VERDE DE HUNT	
FUNDAMENTO	Se basa en una reacción de oxidación y reducción, en donde la estructura de esta sustancia recuerda a la de la fenofaleína; el prefijo "leuco-" refiere a la forma reducida incolora preparada de la malaquita verde La leuco- puede ser oxidada por las peroxidasas para dar la forma oxidada verde; es más confiable para la sangre, pero menos sensible que la de la bencidina
PREPARACIÓN	<ul style="list-style-type: none"> • Mezcla sólida a base de 0.32 g. de perborato de sodio y 0.10g. de malaquita verde que se guarda en frasco ámbar • Solvente: se diluye 5.5 ml de ácido acético en 3.3 ml de agua destilada • Reactivo: se mezclará inmediatamente antes de su utilización ; si presentare un color verde ligero, esto evidenciará que no se preparó bien
PROCEDIMIENTO	Se levanta la mancha mediante un hisopo humedecido en agua destilada al cual se le agrega una gota del reactivo; es positiva la prueba si hay viraje al color verde
TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS	
FUNDAMENTO	Mediante la absorción se evidencia la hemoglobina o alguno de sus derivados en manchas de sangre La hemoglobina diluida en agua (oxihemoglobina) tiene dos bandas de absorción en la zona de espectro visible entre 575 y 540 nm y una banda en los 412 nm más ancha de los derivados porfirínicos, conocida como Banda de Soret
PREPARACIÓN	Se extrae la mancha de sangre con agua destilada y se filtra para llevarse a espectrofotometría ultravioleta visible de doble haz y realizar un barrido espectral con registro gráfico, registrándose la hemoglobina en bandas de absorción a 575, 540 y 412nm La muestra se alcaliniza con hidróxido de potasio y piridina, tornando la muestra a color verde y que corresponde a la hematina alcalina; en el espectro se observa la desaparición de las otras bandas y presentándose una banda a 600 nm. Se agregan unas gotas de sulfato de amonio como reductor para que se forme el hemocromógeno que se registra en bandas de absorción en 559 y 530nm
PROCEDIMIENTO	Se impregna un cuadro de tela blanca y limpia de apresto de 5 X 5 mm con la muestra problema Se añaden 5 ml de agua destilada y se deja reposar durante 10 minutos para extraer y filtrar Se efectúa el barrido espectral y se obtienen tres bandas de absorción; dos finas de 575 y 540 nm. y una más ancha de 412. Este espectro corresponde a la oxihemoglobina Se efectúa nuevamente una extracción de la muestra problema, pero se le agrega una solución de ferricianuro de potasio al 5%; se realiza el barrido y se obtiene una banda de 630 nm. que corresponde a la metahemoglobina

TÉCNICAS CONFIRMATORIAS

CRISTALES DE TEICHMANN O DE HEMATINA

FUNDAMENTO	Las proteínas se separan inmediatamente de la hemoglobina y del grupo prostético cuando se trata con ácido acético, con el cual, se crea un medio ácido en donde el grupo hem se oxida más rápidamente que en un medio alcalino; si hay algún halógeno inorgánico como el cloro, se formarán cristales insolubles de cloruro de ferriprotoporfirina o hematina
PREPARACIÓN	<ul style="list-style-type: none"> • Cloruro de sodio 0.1 gr • Bromuro de potasio 0.1 gr • Ioduro de potasio 0.1 gr • Ácido acético c.b.p. 100 ml
PROCEDIMIENTO	Se coloca en una laminilla de vidrio la muestra problema cubriéndola con un cubreobjetos y se desliza entre éstas unas gotas de reactivo de Teichmann. Se calienta a temperatura baja lentamente hasta la evaporación, dejando enfriar y poder observar al microscopio En caso positivo se observarán unos cristales romboidales de color café oscuro

PRUEBA DE TAKAYAMA O HEMOCROMÓGENO

FUNDAMENTO	La ferroprotoporfirina y la ferriprotoporfirina se combinan con compuestos nitrogenados que incluyen a otras proteínas, hidróxido de amonio, piridina y nicotina llamados hemocromógenos mediante la hemoglobina creando cristales tanto en medio ácido como alcalino
REACCIÓN	La hidrólisis alcalina del hidróxido de sodio libera el al grupo prostético de la hemoglobina, mientras que el hierro del hem se encuentra como ión férrico (+3) debido a la formación de metahemoglobina en el proceso de desecación de la sangre. la carga del hierro se neutraliza por el ión OH. Calentando la glucosa se reduce el ión férrico a ferroso (+2) y la piridina se le combina para dar el hemocromógeno o piridinferroprotoporfirina en forma de cristal insoluble. La prueba es más sensible y sencilla que la de los cristales de hemina y no se han reportado falsos positivos
PREPARACIÓN	Reactivo de Takayama es de naturaleza alcalina Se mezcla una parte de solución saturada de glucosa, una parte de solución de hidróxido de sodio al 10%, una parte de piridina (PM: 79.2 D = 048), y dos partes de agua destilada
PROCEDIMIENTO	Una pequeña cantidad de la muestra problema se coloca entre el porta y cubre objetos Por capilaridad se agrega una poco de reactivo y se calienta a temperatura baja durante 30 segundos Se observan cristales romboidales de color de rosa al microscopio

REACCIÓN DE UHLENHUTH

FUNDAMENTO	<p>La determinación de sangre humana se sustenta en que la inmunoglobulina reacciona con la proteína soluble del antígeno para formar un precipitado visible, que está influenciada por las fuerzas de Van der Waals, puentes de hidrógeno, interacción de dipolos, atracción entre antígenos no polares y la superficie del anticuerpo y la atracción electrostática en varias etapas</p> <p>Inicialmente se forma el complejo antígeno-anticuerpo (en igualdad de concentración) soluble que empieza a unirse como tupida red de moléculas de anticuerpo bivalente y moléculas de anticuerpo polivalente que crece para formar partículas insolubles de gran tamaño que permiten un precipitado visible</p> <p>La reacción puede observarse en la interfase entre dos líquidos en un tubo de ensayo, en un capilar o sobre gel por la difusión entre las partes reaccionantes, o por medio de la electroforesis, pero se deberá tener presente la edad y grado de putrefacción en la degradación de las proteínas</p> <p>El lavado de manchas de sangre con agua y jabón o detergente, interfiere en las reacciones positivas con la presencia de sales de sodio o sulfonatos; el ácido tánico y las proteínas séricas también pueden producir falsos positivos</p>
-------------------	---

PREPARACIÓN	<ul style="list-style-type: none"> • Antisuero humano precipitante se puede preparar ex-sanguinando a un humano e inyectando esa sangre a un conejo para que cree anticuerpos antisangre humana • Solución salina fisiológica
PROCEDIMIENTO	Introducir un pequeño fragmento de la mancha junto con unas gotas de solución fisiológica en un tubo de ensayo y se pasa a centrifugar por 1 a 2 minutos y se usa el sobrenadante, al cual, se le añaden dos gotas de extracto diluido (cantidad igual de antisuero) para observarse como un anillo de precipitación ante una luz indirecta y fondo oscuro antes de 20 minutos
PRECIPITINAS POR INMUNOELECTROFESIS	
FUNDAMENTO	El antígeno emigra anódicamente y el anticuerpo catódicamente durante la aplicación de una corriente eléctrica sobre una placa de agarosa en donde se hacen perforaciones pares, colocando el antígeno (seroalbúmina, α y β globulinas) y el anticuerpo (γ globulinas); terminada la electroforesis se observan bandas visibles de precipitación entre las perforaciones pares de los materiales proteicos específicos
MATERIAL Y EQUIPO	<p>Cámara de electroforesis con fuente de poder con control de 500V, 20μA y control de tiempo</p> <p>Puentes de papel filtro</p> <p>Perforador y extractor de gel de 2 mm de diámetro y Agar</p> <p>Micropipetas graduadas</p> <p>Porta objetos desgrasados y pulidos</p> <p>Suero antihumano completo</p> <p>Ácido dietilbarbitúrico, barbital sódico y lactato de calcio</p>
PREPARACIÓN	<p>1. Buffer para la cámara de electroforesis con un pH de 8.6</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ácido dietilbarbitúrico 1.38 gr • Barbital sódico 8.76 gr • Lactato de calcio 0.384 gr • Agua deionizadas 1,000 ml <p>2. Buffer para el gel con un pH de 8.6</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ácido dietilbarbitúrico 1.1 gr • Barbital sódico 7.0 gr • Lactato de calcio 1.0 gr • Agua deionizadas 1,000 ml <p>3. Gel: diluir 2gr de Agar en 100 ml del Buffer 2</p> <p>Se prepara una placa de gel de 2.5 ml sobre una cama de gasa húmeda y se deja refrigerar por una hora, o tubos de ensayo con 7ml de gel</p>
PROCEDIMIENTO	<p>1. Colocar en uno de los compartimientos 10 ml de Buffer 1 y se colocan puentes de material absorbente en los compartimientos laterales y se prepara el extracto muestra o muestras problema, suspendiéndolos en Buffer 2 por lo menos durante 5 minutos</p> <p>2. se colocan las muestras problema, antisuero y testigo en una horadación de 8 a 10 λ y se coloca en la cámara de electroforesis con la polaridad adecuada a 150 v durante 45 minutos</p>
INTERPRETACIÓN	Las bandas de precipitación se harán visibles en la zona entre el antígeno y el anticuerpo cuando hay positividad
GRUPO SANGUÍNEO EN MANCHAS Y SANGRE FRESCA	
FUNDAMENTO	La presencia o ausencia en los eritrocitos de los antígenos del grupo A y B, determinan los cuatro grupos del sistema: A, B, AB y O (éste denota ausencia de A y B). Existe la presencia de anticuerpos-A (α) y anti-B (β), en el suero de individuos cuyos eritrocitos no contienen el correspondiente antígeno o aglutinógeno y que se presenta en la tabla a continuación:

Grupo	Subgrupo	Antígeno eritrocitario	Anticuerpo sérico
O	-	Ninguno	Anti-A ₁ Anti-A Anti-B
A	A ₁ A ₂	Anti-A ₁ + A A	Anti-B Anti-A ₁
B	-	B	Anti-A ₁ Anti-A
AB	A ₁ B A ₂ B	Anti-A ₁ + A + B A + B	No Anti-A ₁
DETERMINACIÓN DEL GRUPO SANGUÍNEO EN SANGRE FRESCA			
EN VIVOS	Se obtienen 5 ml de sangre venosa, se separa el suero por centrifugación y se suspende el paquete globular al 2% en el propio suero para efectuar determinaciones en tubos de ensayo, y al 5% para determinación en placa		
EN CADÁVERES	Se obtienen 5 ml de sangre no contaminada de cualquier vaso o de cavidad cardiaca, se centrifuga para separar y lavar el paquete globular tres veces con solución salina, desechando el sobrenadante y hacer una suspensión al 2% en solución salina para determinación en tubo de ensayo y al 5% para determinación en placa		
EN COÁGULOS	Exprimir contra las paredes del tubo el coágulo con la ayuda de un aplicador, para lavarse con solución salina tres veces lo extraído y hacer las suspensiones al 2 y 5% para la determinación en tubo y placa		
DETERMINACIÓN	Se coloca una gota de suero anti-A en el tubo marcado "A"; una gota de suero anti-B en el tubo "B"; una gota de lecitina anti-H en el tubo "O"; una gota de anti-A ₁ en el tubo "A ₁ "; una gota de suero anti-Rh ⁰ D en el tubo Rh y añadir a cada tubo una gota de eritrocitos al 2%. Se mezclan y centrifugan durante 15 segundos a 3,400 RPM para los 4 primeros tubos y 90 segundos para Rh Se agita suavemente para desprender el botón globular y se observa al microscopio la presencia o ausencia de aglutinación Para la determinación en placa se siguen los mismos procedimientos básicos con una solución de eritrocitos al 5% sobre una placa de cristal y se observa la aglutinación presente o ausente		
DETERMINACIÓN DEL GRUPO EN SANGRE SECA			
PRINCIPIO	En estas circunstancias, los eritrocitos se han roto, por lo que no es posible las pruebas de aglutinación directa, sin embargo los antígenos del sistema ABO conservan cierta capacidad de combinarse con anticuerpos específicos con formación de antígeno-anticuerpo usado en la detección de antígenos en el estroma de las células rojas en manchas de sangre seca mediante el método de absorción-inhibición o absorción-elusión		
ABSORCIÓN-ELUSIÓN	Tiene su fundamento en la absorción específica entre la mancha problema y su anticuerpo homólogo; después de que la absorción es completa, el excedente de anticuerpo se elimina por medio de lavados con solución salina fría. El complejo antígeno-anticuerpo se disocia por calentamiento, el anticuerpo eluido se pone en contacto con eritrocitos lavados de propiedades antigénicas conocidas y finalmente la aglutinación indica la presencia de un antígeno de la misma especificidad que el de las células usadas como testigo conocido, y es más satisfactoria para la determinación del grupo ABO pero también puede usarse en el sistema MN y para el sistema Rh que son más difíciles por su inespecificidad Se usa paralelamente para la determinación del grupo en manchas de sangre o como método de elección para la determinación de los grupos de saliva, líquido seminal y fluidos orgánicos en los que el antígeno se encuentra en forma soluble		
MATERIAL	Sueros clasificadores anti-A, anti-B, anti-AB y lecitina anti-H, metanol, Na ₂ PO ₄ , KH ₂ PO ₄ , NaCl, Tubos de ensayo, pipetas Pasteur, bulbos de goma, tijeras, aplicadores de madera, guantes desechables, tela de algodón estéril sin apresto, gradillas, refrigerador, centrífuga, baño María a temperatura constante y horno		

REACTIVOS	<p>1. Buffer salino (solución estándar):</p> <p>a) Solución 1/15 M de Na_2HPO_4 (9.47 gr./lt)</p> <p>b) Solución 1/15 M de KH_2HPO_4 (9.08 gr./lt)</p> <p>2. Buffer final:</p> <p>A 72 ml de la solución a, se añade 50 ml de la solución b, y 85 gr. de cloruro de sodio c.s.p. aforar a 1,000 ml en matraz volumétrico (pH = 7.2)</p> <p>3. Preparación de los antisueros:</p> <p>Los sueros anti-A y anti-B se diluyen: a 1.0 ml de antisero se le agregan 10 ml de solución buffer final. Los sueros anti-AB y anti-H se usa sin diluir</p>
PROCEDIMIENTO	<p>Cuatro fragmentos de tela de algodón estéril sin apresto, impregnadas solución salina conteniendo la mancha problema que se colocará en la gradilla "problema" y en otra gradilla se colocarán fragmentos de tela en las mismas condiciones impregnadas con sangre de grupo conocido marcándola en la gradilla de "testigo" y otra serie de tubos con tela no maculada y que se colocará en la gradilla como "control"</p> <p>Se cubren con metanol las telas manchadas hasta cubrirlas durante 15 minutos por lo menos y eliminarlo completamente. A cada tubo se agregarán dos gotas del suero que corresponda, se deja en refrigeración a 4ª en el refrigerador, se lava 6 veces con solución salina hasta obtener una solución clara e incolora. Se añade a cada tubo dos gotas de solución salina a temperatura ambiente, se coloca 56°C. a baño María durante 15 minutos; se sacan con cuidado los fragmentos de tela para agregarles una gota de glóbulos lavados y diluidos al 2%. se centrifuga a 3,400 RPM y se observa si existe o no aglutinación</p>
DETERMINACIÓN DEL GRUPO SANGUÍNEO M-N EN SANGRE SECA	
Esta técnica deberá realizarse preferentemente por un experto en la materia por sus dificultades técnicas	
PREPARACIÓN	<p>1. Se colocan cuadros de 1.5 mm² en las columnas de las gradillas correspondientes al problema, testigo y control; en este caso no se fijarán con metanol como en el sistema ABO</p> <p>2. Agregar una gota de anti-M sin diluir a la hilera de la gradilla correspondiente y una gota de anti-N en la correspondiente, asegurándose que se cubra la muestra. Se deja en refrigeración toda la noche a 4°C</p> <p>3. Se lava por cinco ocasiones con solución salina y se agregan 3 gotas de células conocidas de M y N en las hileras correspondientes y eluir a 56°C. durante 15 minutos; agitar mecánicamente durante 25 minutos y leer la aglutinación y tener la interpretación</p>
INTERPRETACIÓN	<p>M = si aglutina en la hilera M</p> <p>N = si aglutina en la hilera N</p> <p>MN = si aglutinan ambas hileras</p>
FACTOR Rh EN SANGRE SECA POR ABSORCIÓN-ELUCIÓN	
Para la determinación es necesario contar con una muestra de sangre fresca del grupo "O" que contenga los cinco antígenos del sistema Rh (R ₁ R ₂)*	
PREPARACIÓN	<p>Estas células se prepararán antes de ser utilizadas a partir de una muestra de sangre característica* que se lava tres veces con solución salina y tratarla con bromelina comercial diluida 1:10 con solución buffer pH 5.7 y que se prepara de la siguiente manera:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Buffer de fosfatos pH 5.7 <ul style="list-style-type: none"> 14 Vol. de Na_2HPO_4 0.2 molar 14 Vol. de NaH_2PO_4 0.2 molar 15 Vol. de agua bidestilada <p>1. Servir dos gotas de glóbulos lavados de R₁R₂ en un tubo de ensayo</p> <p>2. Servir 0.1 m. de sol. de bromelina y 0.9 de solución buffer en el tubo2 (enzima diluida) y mezclar y colocar el tubo en la centrifuga por 5 a 6 minutos</p> <p>3. Añadir cuatro gotas de buffer con bromalina al tubo 1 y mezclar, colocándolo en incubación a 37°C. durante 10 minutos y sacarlo, para llenarlo con solución salina estéril y centrifugar inmediatamente y lavar tres veces con sol salina para eliminar el sobrenadante, dejando el paquete globular en cada lavado, y suspender finalmente al 3.5% aproximadamente</p>

PREPARACIÓN (continuación)	<ul style="list-style-type: none"> • Preparación de las muestras: <ol style="list-style-type: none"> 1. Dilución de los sueros <ul style="list-style-type: none"> - diluir los sueros anti-D y anti-c con una gota de suero por ocho gotas de solución salina (dilución 1:10) - los sueros anti-C, anti-E y anti-e se diluyen en proporción de 1:2 - la solución bovina se diluye al 1.5% son solución salina 2. Se fragmenta la tela manchada de sangre problema como con sangre testigo de 3 X 3 para ésta y de 4 X 4 para los grupos "C", "E" y "e"
APLICACIÓN	<ol style="list-style-type: none"> 1. Se colocan los fragmentos de la tela en sus respectivos tubos y añadir una gota de antisuero específico en cada tubo correspondiente a la dilución 1:2, tapar y colocar en la gradilla e incubar a 37°C. toda la noche 2. Lavar con solución salina, con cambio de seis veces cada 20 minutos durante dos horas 3. Drenar la última solución salina y servir tres gotas de albúmina diluida a cada tubo para la elusión 4. Incubar durante 40 min. el baño de agua a 60°C. sin tapar; los tubos del baño y retirar con ayuda de aplicadores de madera los fragmentos de tela y agregar células testigo H₁R₂ tratadas con bromelina, tapar los tubos e incubar a 37°C durante hora y media 5. Leer macroscópicamente y anotar los resultados; pasar el contenido de cada tubo a una laminilla que contenga una gota de solución salina, mezclar y leer al microscopio

DETERMINACIÓN DEL GRUPO DEL SISTEMA ABO EN MANCHAS DE SANGRE POR ABSORCIÓN-INHIBICIÓN

El material antígeno se coloca en contacto con su anticuerpo homólogo a fin de efectuar su absorción específica; el anticuerpo en el sobrenadante se observa con eritrocitos de propiedades antigénicas conocidas por lo que se tendrán siempre testigos del grupo conocido

PREPARACIÓN	<p>Solución buffer:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Solución a: solución de fosfato ácido de sodio Na_2HPO_4 1/15 molar (9.47 gr./lt) • Solución b: Na_2HPO_4 1/15 molar (9.08 gr./lt) <p>Buffer final: servir 72 ml de sol. a en un matras volumétrico de 1,000 ml y agregar 28 ml de la sol. b y aforar a 1,000 ml con solución salina (8.5 gr. de NaCl en 1000 ml de agua destilada); debiendo obtener un pH de 7.2</p> <p>Sueros:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Anti-A: diluir 3.5 ml de suero con 450 ml de buffer pH 7.2 • Anti-B: diluir 1.0 ml de suero en 450 ml de buffer pH 7.2 <p>Anti-H: se utiliza sin diluir</p> <p>Células conocidas: Lavar tres veces con buffer pH 7.2 a los eritrocitos conocidos de los grupos O, A₂ y B, y hacer una suspensión al 2%</p>
PROCEDIMIENTO	Colocar fragmentos de 3 mm ² de la tela impregnada de la muestra problema en tubos en las hileras anti-A, anti-B y anti-H, y servir tres gotas de los sueros en las respectivas hileras
INTERPRETACIÓN	<p>O = aglutinación anti-A y anti-B, pero no anti-H</p> <p>A₁ = aglutinación anti-B y anti-H, pero no anti-A</p> <p>A₂ = aglutina anti-B, pero no anti-A, ni anti-H</p> <p>B = aglutinación anti-A y anti-H pero no anti-B</p> <p>AB = aglutina anti-H pero no anti-A, ni anti-B</p>

INMUNOLOGÍA MÉDICA

La inmunidad es un mecanismo de protección del individuo y de la especie mediante el aparato inmunocompetente constituido por células germinales de la médula ósea que originan a las células precursoras que se asientan en el tejido linfoide, encargadas de la maduración de los linfocitos B, y que se transforman en células plasmáticas encargadas de elaborar los anticuerpos dando con esto, la inmunidad inmediata, mientras que en el timo y se mantienen los linfocitos T, a los que se le debe la inmunidad tardía o celular, la memoria inmunitaria y la regulación de la reacción inmunitaria

SISTEMA INMUNITARIO	<p>Es un conjunto de estructuras linforreticulares que identifican a las sustancias propias y a los antígenos o sustancias extrañas al cuerpo, que dan dos reacciones:</p> <p>Reacción humoral con la producción inmediata de sustancia solubles o anticuerpos que actúan contra las sustancias extrañas</p> <p>Reacción celular es la producción de linfocitos sensibilizados al antígeno que libera a las linfocinas como una reacción tardía</p>
REACCIÓN INMUNITARIA	<p>Es inducida porque responde a ciertas sustancias extrañas específicas (Ag) que son transferibles y se pueden trasplantar de un ser humano a otro, con una memoria de reacción de cuando el aparato inmunocompetente se puso en contacto por primera vez con el antígeno</p>
Ag-Ac Y COMPLEMENTO	<p>Antígeno (Ag) es toda molécula de proteína, y algunas de ácidos grasos polimerizados y carbohidratos altamente polimerizados de alto peso molecular que tiene capacidad de producir una reacción inmunitaria; así los aminoácidos lineales son menos antigénicos que los de cadenas múltiples; cabe señalar que existe una relación directa entre la antigenicidad de una molécula y la distancia filogénica entre el organismo de origen y el receptor</p> <p>Hapteno es un antígeno incompleto que se comporta como antígeno cuando se une a una molécula de gran peso molecular, generalmente proteínica, conocida como molécula portadora</p> <p>Anticuerpos (Ac) o inmunoglobulinas (Ig) son proteínas producidas por las reacciones inmunitarias humorales que se combinan específicamente con el antígeno que las origina y que de acuerdo con sus cadenas se dividen en IgG, IgA, IgM, IgD, e IgE</p>
INMUNODEFICIENCIAS	
<p>Es la incapacidad para producir efectores de la reacción inmunitaria.</p> <p>Immunodeficiencia hereditaria: existe la incapacidad de producir efectores de la reacción inmunitaria por desarrollo incompleto e inadecuado del sistema inmunitario</p> <p>Immunodeficiencia adquirida: es la incapacidad de producir efectores de la reacción inmunitaria por efectos de radiaciones, sustancias citotóxicas, neoplasias malignas y otros agentes en sujetos con funcionamiento óptimo del sistema inmunitario</p>	
HEREDITARIAS	<p>Defectos de linfocitos B en forma hereditaria después de los 6 meses de edad que se acompaña de infecciones frecuentes y graves. Microscópicamente no hay folículos germinales ni células plasmáticas en ganglios linfáticos, bazo, tubo digestivo y médula ósea</p> <p>Linfocitos T deficientes por defecto de desarrollo embrionario del tercero y cuarto arcos faríngeos de los que se forman el timo y las glándulas paratiroides, observándose ausencia de timo, incapacidad de inmunidad celular, tetania neonatal, arco aórtico a la derecha y Tetralogía de Fallot</p> <p>Defectos mixtos que se transmite como rasgo autosómico recesivo característico por falta de linfocitos B y T como se observa en la Agamaglobulinemia tipo Suizo.</p>
ADQUIRIDAS	<p>Por depósito de anticuerpo IgA</p> <p>Por depósito de anticuerpo (IgE) y antígeno soluble</p> <p>Por depósito de anticuerpo (Ig), antígeno soluble y complemento.</p> <p>Por depósito de anticuerpo (Ig), antígeno soluble, complemento y leucocitos polimorfonucleares</p> <p>Por depósito de anticuerpo (Ig), antígeno celular y complemento</p> <p>Depósito de partes de complemento o de complemento activado por vía alternativa</p>
HIPERSENSIBILIDAD CELULAR	<p>Se presenta alteración en el mecanismo de inmunidad mediada por células, por lo que en vez de proteger, causa daño tisular en las que intervienen los linfocitos T y macrófagos A, que se verifica directamente entre los linfocitos T y la célula blanco e indirectamente porque el linfocito T libera linfocinas que actúan como factor quimiotáctico para los macrófagos, factor inhibidor de la migración de los macrófagos, el factor de la metaplasia epitelioides de los macrófagos, el ipso de fusión de macrófagos que forman células gigantes multinucleadas, factor blastógeno-mitógeno que transforma la blastogénesis y mitogénesis de los linfocitos T no-sensibilizados y sustancias tóxicas inespecíficas para las células vivas o citotoxina</p>

	Intervienen en el proceso de hipersensibilidad celular las infecciones, la hipersensibilidad a sustancias químicas sencillas y la inmunidad tisular
TOLERANCIA INMUNITARIA	Incapacidad para desencadenar una reacción inmunitaria a un antígeno específico pero conservando la capacidad para otros antígenos, ya que en la etapa embrionaria el sistema linfocitario inmaduro no reconoce a ese antígeno como sustancia extraña, la administración de dosis elevadas de antígenos (polisacáridos) que producen un parálisis del sistema inmunitario del adulto, la administración muy baja de un antígeno soluble muy purificado que inhibe la reacción inmunitaria posterior ante dosis mayores del mismo antígeno y los monómeros inducen tolerancia, mientras los polímeros son inmunógenos
AUTOINMUNIDAD	Reacción inmunitaria contra antígenos propios que causa daño tisular, por el paso a la circulación de sustancias que no habían estado en contacto con el aparato inmunocompetente como la mielina, proteínas del cristalino, o los acrosomas de los espermatozoides, por alteración de la estructura de componentes normales de los tejidos que produce una reacción inmunitaria contra estos componentes alterados, causando una reacción cruzada contra los normales no alterados
SIDA	El síndrome de inmunodeficiencia adquirida es un defecto en la inmunidad por los linfocitos T que afecta a un sujeto previamente sano y sin causa de inmunodepresión, que suele adquirirse por infecciones debidas a agentes oportunistas que se acompañan de neoplasias. Se presentan como: <ul style="list-style-type: none"> - Manifestaciones morfológicas de profunda depleción linfocitaria, con presencia de hiperplasia folicular con grandes centros germinativos en la biopsia de los ganglios linfáticos, y tejido interfolicular con intensa celularidad focal de sinusoides; o bien, los folículos son pequeños, hipocelulares y a veces hialinos, con intensa hiperplasia cortical; o bien, la depleción linfocitaria con proliferación irregular de pequeños vasos sanguíneos - Infecciones por mezcla de organismos oportunistas - Neoplasias malignas habitualmente poco frecuentes

DETERMINACIÓN DE ENZIMAS Y PROTEÍNAS EN MANCHAS DE SANGRE

FUNDAMENTO	Existen una serie de enzimas en los eritrocitos que permiten individualizar las manchas de sangre que cuando son separadas en los componentes proteínicos, se llaman isoenzimas, siendo las más importantes hasta el momento la fosfoglucomutasa (PGM), adenilatokinasa (AK), fosfatasa ácida eritrocítica (EAP), esterasa D (EsD), y que cobra particular interés la proteína heptoglobina (Hp) especialmente porque sobrevive un tiempo razonable en manchas de sangre seca. La fosfoglucomutasa y la heptoglobina son la que frecuentemente se utilizan para la individualización ya que todas las personas no tienen exactamente las mismas variantes y que pueden separarse eficientemente por procedimientos electroforéticos, siendo las variedades más comunes de la fosfoglucomutasa la PGM 1-1, la PGM 2-1 y la PGM 2-2, mientras más frecuentes de las heptoglobina son la Hp 1-1, la Hp 2-1 y la Hp 2-2
MARCADORES GENÉTICOS	Los resultados inmunológicos junto con la combinación de estas proteínas, dan pie a las tablas de distribución en la población para aumentar las probabilidades de exclusión de los diferentes grupos étnicos El procedimiento electroforético se realiza sobre capas de gel de almidón, pero las posibilidades se van reduciendo a medida que la desecación de la mancha se va dando con el tiempo en el siguiente orden: sistema ABO, sistema Rh, Hp y PGM esto es, que los antígenos del primer sistema pueden durar años en condiciones de ser evidenciados, mientras que el sistema Rh algunos meses, las Hp semanas, y las PGM solamente algunos días

EXCLUSIÓN DE LA PATERNIDAD

El polimorfismo antigénico humano puede dar datos significativos, pero no dar datos de certeza de la paternidad de determinada persona, ya que según Bernstein hay tres genes alélicos independientes designados como A, B y O y seis genotipos que corresponden a los cuatro grupos sanguíneos:

GRUPO	O	A	B	AB
GENOTIPO	O/O	A/A o A/O	B/B o B/O	A/B

Para la exclusión de los subgrupos se incluyeron cuatro grupos alélicos A₁, A₂, B y O, para explicar la presencia del aglutinógeno raro A₃, por lo se tiene que pensar en el alelo A₃, y otras ampliaciones para explicar los últimos descubrimientos como los sistemas MN, Rh-Hr, etcétera
 Los antígenos se comportan de acuerdo a las leyes de la herencia mendelianas, así que los resultados de exclusión de paternidad siguen el postulado "Un gen del grupo no pueden aparecer en un niño, a menos que esté presente en el padre, en la madre o en ambos progenitores" con se ve a continuación

REGLAS	<p>Si existe uno u otro grupo sanguíneo, su producto deberá aparecer en la sangre del hijo</p> <p>Ninguno de estos padres podría tener un hijo con el grupo abajo señalado. Esta es la regla de exclusión de primer orden</p> <p>Un padre CC, no podrá tener un hijo cc, necesariamente deberá tener un antígeno C proveniente del progenitor, aunque puede haber alelos paralelos raros en el niño, por lo que se deberá ser muy cauto en la aplicación del postulado.</p> <p>Los grupos sanguíneos utilizados incluyen los sistemas ABO, Ss, Rh (D, C, Cw, E, c y e), y si fuese necesario se podrán determinar el Fy^a, K, Lu^a, JK^a, que permite un 60% de posibilidades de exclusión de paternidad, pero además se tiene la posibilidad del estudio electroforético de las proteínas séricas Hp, Gc, y las de las enzimas de los eritrocitos EAP (fosfatasa ácida eritrocítica), PGM (fosfoglucomutasa), ESD9 (estearasa D), AK (adelinatokinasa), ADA (adenosindeaminasa), y 6PGD (6-fosfogluconatodehidrogenasa), con las que se eleva a un 90%, y si se tiene posibilidad de detectar antígenos del sistema HLA, el porcentaje aumenta hasta un 98.62% y con DNA Finger Print hasta el 100% (no contando a los gemelos monocigotos)</p>
---------------	--

PADRES

O/O O/O A	A/O O/O B	B/O O/O A	A/B A/O O	A/B A/B O	O/O O/O B
--------------	--------------	--------------	--------------	--------------	--------------

RECOLECCIÓN Y EMBALAJE DE LAS MUESTRAS DE SEMEN

VAGINA	<p>Se deberán tomar tres muestras como mínimo mediante hisopos, para hacer un frotis inmediato, teniendo cuidado de no pasar más de una vez el hisopo.</p> <p>Se fija el frotis a calor y el hisopo se depositará en un tubo de ensayo con dos ml de solución salina estéril y se tapa el tubo y se realiza una microscopia directa en ese momento si es posible</p> <p>Se toma una segunda muestra con un hisopo impregnado en solución salina y se deposita en el tubo n° 2 para determinar la fosfatasa ácida y su cuantificación si es posible</p> <p>La tercera muestra se toma y se almacena para aclaraciones o confrontas.</p> <p>En la necropsia se deberá tomar un espécimen a estudiar del interior del cuerpo con menos riesgo de contaminación</p>
TELAS MANCHADAS	Se embalan en bolsas de plástico cancelándolas con una etiqueta previa fotografía de éstas

ETIQUETAMIENTO	<p>Todos los contenedores de muestras les agregará una etiqueta firmemente adherida con los siguientes datos:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Número de averiguación o expediente; 2. Fecha y hora en que se recolectó la muestra; 3. Sitio de donde se tomo la muestra; 4. Naturaleza presunta del indicio; 5. Nombre del investigador que hizo la toma y el embalaje. <p>Se deberá anotar en una bitácora los datos de las diferentes etiquetas para que se tome firma y sello del agente del Ministerio Público que recibe</p>
-----------------------	--

TÉCNICAS DE ORIENTACIÓN

FLUORESCENCIA A LA LUZ ULTRAVIOLETA	El líquido espermático contiene alta concentración de flavinas que son las que dan una fluorescencia blanco-verdosa cuando son observadas con Luz de Wood, y que permite su localización topográfica de posibles huellas espermáticas, tanto en el lugar de los hechos como sobre las prendas y ola víctima
FOSFATASA ÁCIDA	Enzima que hidroliza a los esterres alifáticos y aromáticos del ácido ortofosfórico. En los humanos se ha encontrado en concentraciones de 20 a 400 veces más que en otros fluidos, por lo tanto, su detección hace sospechoso al hallazgo, por lo

FOSFATASA ÁCIDA (continúa)	<p>que se deberán ajustar los reactivos para su detección, de manera que solamente se obtenga reacción positiva cuando la enzima precipitada se encuentre por arriba de 20 unidades</p> <p>La fosfatasa ácida reacciona con el reactivo 1-naftilfosfato de calcio quedando libre el naftol; éste reacciona con sulfato de dianilsiltetrazonio en forma de un colorante azoico violeta intenso</p>
INHIBICIÓN DE LA FOSFATASA ÁCIDA CON ÁCIDO L-TARTÁRICO	<p>La formación de precipitado violeta intenso de partícula grande procedente de la fosfatasa ácida seminal, es diferente al precipitado café rojizo de menor partícula de origen no prostático, ya que la fosfatasa ácida puede hidrolizar ciertos fosfatos orgánicos en medio ligeramente ácido; el sustrato en este procedimiento es el α-naftil fosfato de calcio, en donde la fosfatasa rompe el radical fosfato, liberando al grupo α-naftol, el cual reacciona con el azul diazo, formando el complejo violeta</p>
TÉCNICAS DE CONFIRMACIÓN	
ESPERMATOSCOPIA	<p>La certeza está dada con el hallazgo de los espermatozoides en el espécimen estudiado</p> <p>El espermatozoide lo identifica una cabeza ovoidal 4.6 X 2.6 X 1.5μ, un segmento intermedio que contiene mitocondrias y una cola conformada por nueve filamentos que rodean a otros dos centrales, con una concentración de 50 millones por mililitro</p> <p>Se hace a veces difícil su identificación ya que las bacterias atacan inicialmente su tallo</p> <p>La vida media de los espermatozoides es variable, ya que depende de las condiciones que lo circundan al momento de su recolección, tales como, infecciones, pH, grado de putrefacción, etc, pero las referencia de supervivencia en recto no sobrepasa de las doce horas</p> <p>Para su identificación se usa la tinción de Gram, tiñendo la cabeza de color rosa y el cuerpo y tallo de color azul</p>
DETERMINACIÓN DEL GRUPO DEL SISTEMA ABO EN SEMEN Y SALIVA	
FUNDAMENTO	<p>Las sustancias del grupo ABO son solubles en agua y se encuentran en el líquido seminal y saliva por lo que puede determinarse por el método de absorción-inhibición</p>
PREPARACIÓN	<ol style="list-style-type: none"> Diluir 3.5 ml de antisuero anti-A en 450 ml de buffer salino; 1 ml de anti-B en 450 ml de buffer salino; anti-H se usa tal y como lo presenta el distribuidor comercial. Buffer salino: <ol style="list-style-type: none"> Na₂PO₄ anhidro 1/15 molar (4.47 gr./lt) KH₂PO₄ anhidro 1/15 molar (9,09 gr./lt) Solución final: 72 ml de solución a, más 28 ml de solución b, más 8.5 gr. de NaCl disueltos en 1,000 ml de agua destilada. (pH 7.2) Se prepara una suspensión al 2% de eritrocitos O, A₁ y B en buffer salino Se impregnan fragmentos de tela de 1 X 1 mm. con la muestra problema y con los testigos para colocarse en los tubos correspondientes en donde se les colocan tres gotas de anti-A a la hilera anti-A; tres gotas de anti-B en su hilera y tres gotas de anti-H en la hilera anti-H Se agitan vigorosamente y se dejan para que se efectúe la absorción durante toda la noche en refrigeración a 4°C; se centrifugan y se remueve el sobrenadante sobre una laminilla clasificadora Se agrega una gota de suspensión de eritrocitos al 2% y se agita mecánicamente 12 minutos, se espera 9 minutos más y se leen los resultados en el microscopio
INTERPRETACIÓN	<p>O = aglutinación con anti-A y anti-B pero no con anti-H</p> <p>A = aglutinación en anti-B y anti-H pero no en anti-A</p> <p>B = aglutinación en anti-A y anti-H pero no con anti-B</p> <p>AB = si no aglutina con anti-A ni con anti-B pero si con anti-H</p>

