

# Determinación del porcentaje de expresión del grupo ABO en manchas secas de saliva

Por el método de absorción-inhibición con fines forenses

María Luisa Muñoz A.<sup>1</sup>, Yolanda Díaz B.<sup>1</sup>, Ana María Cortés C.<sup>1</sup>, Claudia Elena González S.<sup>1</sup>, Carlos Bancalari O.<sup>1</sup>, Ma. Gloria Gómez S.<sup>1</sup>, María Sonia Hernández D.<sup>1</sup>, Esperanza González Q.<sup>2</sup>, Rosario L. Uvalle N.<sup>1</sup> y Claudia V. Mederos T.<sup>1</sup>

Departamento de Farmacobiología<sup>1</sup>, Departamento de Química<sup>2</sup>  
Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías  
Universidad de Guadalajara<sup>1,2</sup>  
Guadalajara, Jal.; México

[maria.malmaguer, yolanda.diaz, claudia.gsandoval, claudia.mederos, carlos.bancalari, gloria.gomez, maria.hduarte, esperanza.gonzalez, rosario.uvalle, claudia.mederos]@academicos.udg.mx, ana\_maria.cortex@hotmail.com

**Resumen**— En el siguiente trabajo se analizan manchas de saliva seca, las cuales pueden ser indicios dentro de una escena del crimen y que en conjunto con los demás objetos de estudio ayudan al esclarecimiento de los hechos. Una de las técnicas forenses en el área de la hematología forense, es el método de absorción-inhibición, el cual, por la ley de acción de masas se puede observar la reacción antígeno - anticuerpo, y de esta manera determinar los anticuerpos correspondientes en la saliva de los individuos secretores para la determinación del grupo sanguíneo ABO. Con el avance tecnológico, este método dejó de utilizarse, no obstante, se cuenta con muy poca información actualizada sobre los porcentajes de expresión en fluidos biológicos como los es la saliva. Además, se hace mención en algunos artículos que aproximadamente un 80% de la población mexicana son individuos secretores, sin embargo, no hay evidencia que compruebe dicho resultado. Por ello, tomando en cuenta la población estudiantil de la carrera de Químico Farmacéutico Biólogo del Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías (CUCEI), se realizó este trabajo en el que se incluyeron un total de 147 muestras de sangre (para la determinación del grupo sanguíneo con sueros hemoclasificadores) y manchas secas de saliva de los estudiantes, que por medio del método absorción-inhibición, fue posible determinar el porcentaje de expresión del grupo sanguíneo ABO en individuos secretores a través de las manchas secas de saliva, obteniendo un 81.63%, de los cuales 42 sujetos (28.6%) del fueron del grupo A, 9 individuos (6.1%) del grupo B, 1 solo sujeto (0.7%) del AB y 95 sujetos (64.6%) del grupo O. Al comparar los grupos sanguíneos entre los obtenidos por el Grupo directo y el obtenido en la mancha seca de saliva, se puede concluir con un 95% de confianza, que las diferencias observadas no son estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ ); por lo que la determinación del grupo sanguíneo ABO en muestras de saliva (en ayunas) de los participantes por medio del método absorción-inhibición, no presentó diferencias estadísticamente significativas en comparación con el grupo ABO obtenido en sangre con el método directo.

*Palabras claves*— mancha, grupo ABO, mancha, saliva, evidencia.

## I. INTRODUCCIÓN

Dentro del área forense, en la escena del crimen, se pueden encontrar con muchos elementos que ayudan en la resolución del caso, y son, a través de estos, que facilitan la detección del culpable o la víctima. Estos elementos llamados “indicios” nos proporcionan información fidedigna, siendo los fluidos corporales un elemento clave y que se encuentran en la mayoría de las escenas del crimen. Los que más se encuentran son: sangre, semen, saliva, orina, excremento, sudor, entre otros. Una de las técnicas de inmunohematología forense más antiguas y utilizadas es el método de absorción-inhibición, el cual, gracias a la ley de acción de masa se puede contemplar la afinidad de la reacción y refleja la fuerza de unión entre el antígeno y el anticuerpo, en el que por medio de este método se puede encontrar los anticuerpos correspondientes en la saliva de los individuos secretores para la determinación del grupo sanguíneo.

Con el avance de las tecnologías, este método dejó de utilizarse sustituyéndolo por sistemas más sofisticados como es la técnica ELISA, sin embargo, a pesar de ello, se cuenta con muy poca información respecto al método. Además, se hace mención en diversos artículos que aproximadamente un 80% de la población mexicana son individuos secretores, no obstante, no hay evidencia que compruebe dicho resultado. Por ello, tomando en cuenta la población estudiantil de la carrera de Químico Farmacéutico Biólogo del Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías (CUCEI), se incluyó un total de 147 muestras de sangre y saliva de los estudiantes, donde, a través del método mencionado anteriormente y dando en procedimiento previo a con las muestras a trabajar, fue posible determinar el porcentaje de expresión del grupo sanguíneo ABO en individuos secretores a través de las manchas secas de saliva, obteniendo un 81.63% de la población estudiantil participante. Sin embargo, el porcentaje restante no coincidente, no se descarta por completo que se deba a individuos no secretores, sino también siendo posibles diversos factores como son: los subgrupos A y B en algunos individuos, individuos que secretan en algunos fluidos y en otros no, componentes de la saliva como son las mucinas y la flora bacteriana, el efecto prozona y la rutina de aseo bucal. Además de factores externos como son el pH, la temperatura, la concentración de la solución salina (que influye en la fuerza iónica), así como la pasta dental utilizada asimismo como los alimentos que consumió el participante. La muestra fue tomada en ayunas y no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la comparación entre esta muestra y el grupo sanguíneo directo.

Por lo expuesto anteriormente, el método absorción-inhibición sigue siendo igual de confiable, y dado en casos en que, por alguna razón, ya sea económica o por fallas técnicas, este método sería una buena opción para la determinación del grupo sanguíneo cuando se cuenta con fluidos, en este caso saliva, en la escena del crimen.

## II. ANTECEDENTES

En la Criminalística, el punto medular es la identificación del o los sujetos involucrados en el delito que se investiga, para lo cual existen diversos procedimientos y técnicas que permiten lograr su individualización empleando variados métodos; que por medio de la vinculación de todos ellos es posible lograr la identificación del individuo involucrado en el delito que se investiga (Ríos., 2023). Procedimientos directos de identificación policial y medicolegal como son la fotografía, retrato hablado, papiloscopía y técnicas antropométricas, que son de las primeras técnicas empleadas, a ellas se adicionan métodos indirectos como técnicas serológicas y de hematología, para lograr esa individualización y precisar la identificación (Silveyra, 2006).

Los indicios, son el material sensible significativo relacionado con los hechos que se investigan, constituyen el objeto formal de estudio de la criminalística, se pueden encontrar en el lugar de los hechos y en el cuerpo de la víctima o del victimario, en áreas relacionadas, ya sean próximas o distantes. Para Moreno González “es todo objeto, instrumento, huella, rastro, marca o señal que se produce durante la ejecución de un delito” [3]. El examen forense de indicios, también denominados evidencia física significativa, comprende los siguientes pasos: su reconocimiento en la escena del crimen, su registro documental con relación a la propia escena, su colección y preservación, su análisis, la interpretación de los resultados derivados de su examen y, finalmente, el reporte de los mismos, es decir, la emisión del dictamen[4]; estos pueden ser muy diversos como huellas (dermopapilares, de pasos, de dientes, uñas, vestidos, animales, vehículos, fractura, etc.), objetos (instrumentos, armas, proyectiles, casquillos, papeles, cuerdas, vestidos, etc.), manchas (sangre, semen, orina, saliva, mucus, obstétricas, fecales, etc.), pelos, fibras, polvos, etcétera[4].

Las manchas que se pueden encontrar en una escena pueden ser de:

- Sangre: muy valioso en la escena del delito, no solamente tiene una importancia decisiva para demostrar la perpetración del crimen, sino que también aporta un fundamento firme y sólido para la acusación, constituyendo muchas veces la única prueba plena y fehaciente, la “prueba técnica”, que conduce inequívocamente, la sentencia del acusado, por lo que la sangre en delitos que se realizaron con violencia es un indicio fundamental para llegar al esclarecimiento de lo que sucedió en la escena[5,6,7].
- Semen: presente casi siempre en las agresiones con componente sexual. Por ello, debe buscarse en el lugar de los hechos, en la víctima y el sospechoso, en prendas de vestir, sábanas, condones y diversos objetos, dado que su examen permite reconstruir los hechos e identificar a sus autores [8].
- Orina: la cual puede estar sola o asociada con meconio, excremento, semen, sangre, etc. Al examen macroscópico, se presenta en forma de machas de color amarillento y de un olor suigéneris. Cuando las manchas se encuentran sobre los tejidos, bajo luz ultravioleta se identifican con claridad debido a su fluorescencia blanco-brillante [4].
- Excremento: no es frecuente, pero puede ser resultado de la excesiva tensión nerviosa del delincuente. Sin embargo, entre muchos delincuentes según varios autores como lo describe Moreno L., el hecho de dejar material fecal en el lugar del delito es una de las tantas supersticiones que tienen, como que con esto no serán, o que puede ser por el miedo, otra razón sería encontrar papeles del baño después de haber defecado [4].
- Sudor: la tensión nerviosa a la que está sometido el delincuente durante la comisión del delito provoca su secreción, se puede encontrar en sus vestidos, pañuelos, sombreros, ropa de cama y otros artículos; su localización no resulta fácil ya que al ser incoloro no es visible. Sin embargo, su olor característico, así como su efecto fluorescente permite presumir su existencia [4].
- Saliva: aunque es un indicio poco frecuente, sus características organolépticas, así como su débil fluorescencia, permiten sospechar su existencia, la cual se confirma a partir de los elementos químicos y citológicos, que caracterizan su composición. Se pueden encontrar en las boquillas de cigarros y puros, pipas, pañuelos, vasos o tazas; en estampillas postales, sobres o hasta en chicles. Sobre telas presentan un color amarillento, blanco o gris. Sus contornos son imprecisos e irregulares y almidonan ligeramente el paño. Su búsqueda se puede realizar con luz ultravioleta, debido a que poseen cierta, aunque débil, fluorescencia por la mucina [4]. A esta sustancia se le pueden realizar pruebas serológicas, y en virtud de la presencia también de células, se puede detectar drogas, alcohol, e identificar hormonas [9]. De los estudios serológicos se puede analizar la presencia de moco, amilasa, albuminas, sulfocianatos, tiocianatos, nitritos, fosfatasa alcalina, así como de células pavimentosas (boca y faringe) y ciliadas de las vías respiratorias.

De todo lo anterior surge la idea de la realización de este trabajo ya que, por medio del estudio de manchas secas de saliva, y en virtud de que algunos antígenos eritrocitarios se pueden secretar en fluidos biológicos, se pretende determinar el porcentaje de expresión del grupo sanguíneo ABO en manchas secas de saliva por medio del método absorción-inhibición. Con esta determinación en casos delictuosos, solo se puede excluir sospechosos, pero esto no le resta importancia, ya que en un determinado caso delimita y reduce el universo de estudio en el caso de la búsqueda y rastreo entre un grupo grande de individuos sospechosos; otro punto importante es que la obtención de muestra de saliva es un método fácil de recolección y sobre todo no invasivo[10], y en el caso de delitos donde se han realizado mordeduras como agresiones sexuales, homicidios es posible encontrar depósitos de saliva en dichas marcas. Lo que puede resultar difícil en la recolección de este tipo de mancha en superficies como la piel, ropa, papel y otros objetos inanimados es que casi es completamente invisible, mas no imposible su análisis [12]. Para la recolección de saliva sobre piel, se emplea un hisopo húmedo o papel

filtro también húmedo con solución salina fisiológica y colocándolo suavemente sobre la piel en donde se ubica la saliva seca [11].

#### *A). Grupo sanguíneo ABO*

Los antígenos del sistema ABO se identifican sobre los eritrocitos entre la quinta y sexta semana de gestación en el embrión en formación y terminan su desarrollo hasta después del nacimiento, al adicionarse los azúcares terminales sobre la cadena de oligosacáridos en la membrana de los hematíes, lo que da origen a cada uno de los antígenos de forma específica. Entre los 2 y 4 años, los antígenos A y B están completamente desarrollados y permanecen constantes durante toda la vida, estos antígenos se identifican inicialmente en los eritrocitos y más tarde en la superficie de otros tipos de células, así como en algunas secreciones lo cual forma parte de la importancia de este análisis en la medicina forense. [13].

- Antígenos del sistema ABO

Son tres genes los que controlan la expresión de los antígenos ABO. El gen H, localizado en el cromosoma 19, codifica para la producción de la enzima transferasa H encargada de unir una molécula de L-fucosa a la galactosa terminal (Gal) de un precursor común unido a los lípidos o proteínas de membrana del eritrocito dando origen al antígeno H, que es la base para la posterior formación de los antígenos de los grupos sanguíneos ABO. Los sujetos que son homocigotos para el gen nulo (h/h) no produce el antígeno H y desarrollan anticuerpos anti-H por lo tanto estas personas aparte de no producir el antígeno H tampoco producen los antígenos A o B, y su suero contiene anti-A, anti-B y anti-H, este fenotipo se conoce como el fenotipo Bombay [17]. El gen ABO, posee tres alelos: el A, el B y el O, que varían de acuerdo con las sustituciones de nucleótidos las cuales determinan las especificidades de las enzimas para las cuales codifican. El alelo A codifica para la enzima transferasa A, que cataliza la adición de un residuo de N-acetilgalactosamina al antígeno H formando así el antígeno A; el alelo B codifica para la enzima transferasa B que cataliza la adición de un residuo de D-galactosa (GAL) al antígeno H, generando el antígeno B, el alelo O sólo difiere del alelo A en la delección de un nucleótido (guanina (G) en aposición 261), lo que tiene como consecuencia un cambio en el marco de lectura y la producción de una proteína sin actividad de transferasa. En la Figura 2 se observa la estructura de los antígenos ABO y de los pequeños cambios que sufre para la diferenciación de cada grupo a partir de una sustancia precursora[13].

- Fenotipos ABO en diferentes poblaciones

La distribución de los cuatro grupos sanguíneos A, B, AB y O varían en las diferentes poblaciones del mundo, dependiendo de la frecuencia de los tres alelos del gen ABO. El más frecuente es el grupo O, seguido del grupo A, luego el B y por último el AB. En la Tabla 1, se observa la frecuencia de los fenotipos en diferentes poblaciones [17].

Tabla I. Distribución del porcentaje de los fenotipos ABO por raza o grupo étnico.

Raza o grupo étnico	<i>n</i>	Fenotipo (%)			
		<i>O</i>	<i>A</i>	<i>B</i>	<i>AB</i>
Blancos no hispanos	2'215,623	45.2	39.7	10.9	4.1
Hispanos <sup>a</sup>	259, 233	56.5	31.1	9.9	2.5
Negros no hispanos	236, 050	50.2	25.8	19.7	4.3
Asiáticos <sup>b</sup>	126, 780	39.8	27.8	25.4	7.1
Indígenas norteamericanos	19, 664	54.6	35.0	7.9	2.5
Todos los donantes	3' 086, 215	46.6	37.1	12.2	4.1

<sup>a</sup> Los hispanos incluyen mexicanos (68.8%), puertorriqueños (5%), cubanos (1.6%) y otros donantes hispanos (24.6%).

<sup>b</sup> Los asiáticos incluyen a los chinos (29.8%), filipinos (24.1%), hindúes (13.8%), japoneses (12.7%), coreanos (12.5% y vietnamitas (7.1%). Tomado de (Mollison [17]).

- Individuos secretores

Aproximadamente el 80% de las personas son secretoras de antígenos ABO; esta secreción de A, B, AB y O es controlada por los alelos *Se* y *se*, del gen secretor *Se*, localizado en el cromosoma 19, el cual codifica para la síntesis de la enzima (Fucosiltransferasa) que se expresa en el epitelio de tejidos secretores, incluidas las glándulas salivales, sistema respiratorio y gastrointestinal, encontrándose así las glicoproteínas específicas en saliva, líquido seminal, lágrimas, sudor, orina, jugos digestivos, bilis, leche materna, líquido pleural, líquido pericárdico y peritoneal, líquido amniótico, y en los líquidos de hidroceles y quistes de ovario. No se han encontrado estos en el líquido cefalorraquídeo. Los individuos “secretores” poseen al menos una copia del gen *Se* (*Se/Se* o *Se/se*), que codifica para una enzima funcional produciendo antígeno H en las secreciones, el cual a su vez es procesado como antígeno A y/o B, dependiendo del genotipo ABO del individuo. Por su parte los individuos “no secretores” son homocigotos para el gen nulo (*se/se*) y por lo tanto no pueden producir la forma soluble del antígeno H [13]; por lo que existen solamente dos fenotipos: el secretor *Se/Se* o *Se/se* y el No Secretor (*se/se*) [18].

Cuando el gen “*Se*” está presente, actúa sobre una sustancia precursora, produciéndose sustancias ABH hidrosolubles que se encuentran en todos los fluidos que se secretan por el individuo: saliva, fluido seminal, jugo gástrico, orina, bilis, leche, líquido amniótico, líquido pericárdico, líquido peritoneal, lágrimas, y otros, como lo describe también Arbeláez (2009) [18, 19, 20]. Se estima que la estimación para la población de México es aproximadamente el 85% de los individuos son secretores, sin embargo es escasa la información relacionada con la población mexicana [21].

- Reacción antígeno – anticuerpo

La reacción antígeno – anticuerpo, que provoca la aglutinación de los eritrocitos, fenómeno que ocurre por lo general en la mayoría de las técnicas que se realizan en Inmunohematología; para lo que existen 2 requisitos: primero una adecuada complementariedad de encaje, o sea que puedan unirse a los anticuerpos solo aquellos antígenos que se ajusten al sitio de combinación del anticuerpo y la complementariedad de carga, o sea las cargas opuestas entre el antígeno y el anticuerpo las cuales van a crear fuerzas de atracción, mientras que cargas iguales crean fuerzas de repulsión. Una vez que se forma el complejo antígeno - anticuerpo, las fuerzas que mantienen unido este complejo son interacciones interatómicas débiles que mantienen el antígeno y al anticuerpo en un contacto muy cercano, capaz de generar fuerzas que estabilizan la unión del complejo como las interacciones iónicas, puentes de hidrógeno, fuerzas de Van der Waals e interacciones hidrofóbicas [14, 15].

La aglutinación de los anticuerpos primero consiste en la unión física al antígeno en los eritrocitos (lo que se llama sensibilización), luego en una segunda etapa los hematíes, a los cuales ya se le unieron los anticuerpos, aglutinan formando puentes entre ellos para generar una estructura como enrejado que constituye la aglutinación [16]. Los anticuerpos específicos del sistema ABO, son encontrados en otras células y en fluidos corporales como saliva, orina, semen, lágrimas y leche, siendo conocidos a las personas que los producen como “individuos secretores” [1].

### *B). Saliva.*

Es una secreción exócrina mucosa clara, ligeramente ácida, constituida por una mezcla compleja de fluidos de glándulas salivales mayores y menores, con bacterias orales y restos de alimentos. El volumen diario de saliva secretado oscila entre 1 y 1.5 L [22, 23]; constituida por una variedad de electrolitos, como sodio, potasio, calcio, magnesio, bicarbonato y fosfatos; también tiene inmunoglobulinas, proteínas, enzimas, mucinas y productos nitrogenados, como urea y amoníaco. Estos componentes juegan diferentes papeles: (1) el bicarbonato, fosfatos y la urea actúan para modular el pH y la capacidad amortiguadora de la saliva; (2) las proteínas, macromoléculas y las mucinas sirven para limpiar, agregar y / o unir microorganismos orales y contribuir al metabolismo de la placa dental; (3) el calcio, el fosfato y las proteínas trabajan juntos como un factor antisolubilidad y modulan la desmineralización y la remineralización; y (4) las inmunoglobulinas, las proteínas y las enzimas brindan acción antibacteriana[24].

Las mucinas son componentes proteicos importantes en la saliva, son macromoléculas multimerizantes con una extensa glicosilación ligada al Oxígeno (50–80% en peso) de dominios ricos en Ser / Thr / Pro. Estos oligosacáridos contribuyen a las propiedades viscosas y adhesivas de la saliva, y proporcionan sitios de interacción para las bacterias e interacciones de los leucocitos [25].

Hay dos tipos de mucinas en la saliva con diferentes características: MG1, un componente de masa molecular alta ( $M_r > 106$ ), y MG2 ( $M_r 1.2-1.5 \times 10^5$ ) que es una proteína pequeña no multimerizante codificada por el gen MUC7 secretada por células serosas. Ambas poblaciones de mucinas forman parte de la saliva que recubre la superficie del diente e interactúa con diferentes especies de bacterias [26, 27, 28]. La fracción de alto peso molecular de la saliva sugiere que el gen MUC5B es el principal portador de mucina de los antígenos del grupo sanguíneo. Los diferentes productos del gen de la  $\alpha 1,2$  fucosiltransferasa en la sangre y las secreciones corporales son responsables de la producción del antígeno principal del antígeno sacárido precursor, el epítotope H (Fuc $\alpha 1$ -2Gal) [29]. Las mucinas están compuestas de glicoproteínas, razón por la que los antígenos de los grupos sanguíneos ABO se producen en grandes cantidades por las glándulas salivales submaxilar, sublingual y ampliamente distribuidos en la saliva humana [23].

Los antígenos histosanguíneos son carbohidratos complejos que se encuentran en forma de glicoproteínas o glicolípidos en los eritrocitos y el epitelio de mucosas, o de forma libre en fluidos como son leche, saliva o contenido estomacal; estos determinan los tipos de sangre ABO, Lewis y el tipo secretor mediante glucosiltransferasas que adicionan monosacáridos a un precursor y que son codificadas por una familia de genes [30, 31]. Aunque se sabe que la saliva contiene sustancias del grupo sanguíneo, las moléculas que transportan estos antígenos no están claras, pero por electroforesis se ha identificado la mucina salival de alto peso molecular (MG1) y que es el principal portador de los restos de oligosacáridos que constituyen las sustancias de los grupos sanguíneos ABO [29].

### *C). Método de absorción - inhibición*

La detección de sustancias ABH solubles en agua en fluidos corporales por absorción-elución no fue posible debido a su solubilidad; sin embargo en un documento en 1969 se demostró que los antígenos A

y B en la saliva podían detectarse a diluciones muy altas y, además, era posible no detectar estos antígenos en muestras no diluidas, lo que demuestra las dificultades experimentadas por algunos investigadores, lo que podría deberse al exceso de antígeno en lugar de pérdida debido a la solubilidad; estos antígenos parecen unirse a todo tipo de materiales textiles, tanto naturales como sintéticos, de modo que su naturaleza soluble no es problema[32]; por esto, a pesar de que el método absorción-elución fue una de las técnicas que más se empleaba al inicio de las técnicas de inmunohematología, después se desarrolló el método de absorción-inhibición, donde se detecta la presencia del antígeno o del anticuerpo cuando la aglutinación previamente observada de un elemento queda inhibida [21, 33].

El fundamento de esta técnica como primer paso es que se tiene que realizarse la absorción específica entre la mancha problema y el anticuerpo correspondiente; una vez completada la absorción es eliminada, para finalmente trabajar con los elementos restantes (sobrenadante), donde se ponen en contacto con glóbulos rojos lavados de propiedades antigénicas conocidas, finalmente la aglutinación indica la presencia de un antígeno diferente al de las células usadas como testigo conocido [2]. Aunque hay diversas técnicas forenses que evalúan los antígenos eritrocitarios (grupo sanguíneo), antígenos de histocompatibilidad (HLA), proteínas plasmáticas y enzimas eritrocitarias, estas no son útiles en la identificación de cadáveres, ya que se alteran rápidamente luego de la muerte, pero si son importantes como marcadores ya que se transmiten obedeciendo a las leyes mendelianas de la herencia [2].

#### *D). Determinación del grupo sanguíneo en manchas de saliva*

Cuando se originan los antígenos ABO en sujetos secretores, el semen, la saliva y otros fluidos corporales, así como la secreción vaginal, contienen concentraciones muy altas de sustancias específicas del grupo ABO que se detectan fácilmente mediante la prueba de absorción-inhibición. Sin embargo, al trabajar con manchas, surgen otras dificultades ya que no hay una medida absoluta de la cantidad de material bajo prueba. Ocasionalmente, esta dificultad también se encuentra con muestras de saliva cuando, debido a circunstancias, el donante no puede salivar y se le da agua para beber. No obstante, en 1976 se logró demostrar la detección específica de los antígenos ABO tanto por medio del método absorción-inhibición como por el método absorción-elución, y que estos métodos deben usarse en paralelo incorporando técnicas de dilución y los resultados informados solo cuando se obtiene la correlación completa; además de que la tipificación de Lewis es útil, particularmente para la confirmación de resultados en individuos no secretores [32].

En 1991, se demostró esta misma detección por medio del método ELISA, combinado con las especificaciones para la interpretación de los resultados como fueron las diluciones para los fluidos que utilizó entre ellos la saliva como para los antisueros, proporcionando un método confiable y sensible para la tipificación ABO de fluidos corporales en muestras forenses; demostrando que el tipo de Lewis no se determina específicamente; que los antisueros de Lewis proporcionan un medio para establecer la presencia de fluidos corporales de individuos secretores y no secretores [34].

#### *E). Porcentaje de expresión*

La expresión de un gen se obtiene cuando una porción de ADN se transcribe para crear una molécula de ARN como primer paso en la síntesis de proteínas. Del numeroso grupo de genes que se encuentran en el núcleo y que codifican proteínas, sólo un subconjunto de ellos se expresará en un momento determinado, y esta expresión selectiva viene regulada por distintos aspectos: tipo de célula, fase de desarrollo del ser vivo, estímulo interno o externo, enfermedades, etc. [35]. La comparación entre distintos perfiles de expresión genética es una herramienta básica para poder responder a un gran número de cuestiones biológicas, de las que se puede destacar la identificación de los genes de un organismo que se activan durante un ciclo celular o una producción de proteínas para el exterior; también es importante en el área médica, cuando se realizan investigaciones sobre el efecto de las

enfermedades en la expresión genética por ejemplo en roedores, primates y humanos. En últimas fechas también esto ha sido de gran ayuda para el estudio de la secuencia del genoma humano. Otro ejemplo de importancia de esta expresión selectiva se puede hacer manifiesto en particular en los llamados “individuos secretores” de los antígenos ABO, donde estas secreciones son controladas por los alelos  $S_e$  y  $s_e$ , del gen sector  $S_e$ , y que gracias a ello, es posible la determinación del grupo sanguíneo a través de fluidos, muy particularmente en este caso, la saliva[35]; por o lo que con todo lo anteriormente expuesto, el objetivo de este trabajo fue determinar el porcentaje de expresión del grupo sanguíneo ABO a través de manchas secas de saliva por medio del método de absorción-inhibición con fines forenses.

### III. MATERIALES Y METODOS

El universo de estudio fueron individuos aparentemente sanos de la carrera de Químico Farmacéutico Biólogo del Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías de la Universidad de Guadalajara. El tamaño de muestra se calculó por medio de la siguiente fórmula general:

$$n = [(K)^2(p)(q)N] \div [((e)^2 (N-1)) + K^2(p)(q)] \quad (1)$$

Donde “N” es el tamaño de la población o universo, siendo igual a 180 alumnos admitidos al semestre para la carrera de Químico Farmacéutico Biólogo. “K” es una constante igual a 2 acorde a un 95.5% de confianza, “p” es igual a la proporción de individuos que poseen la característica en la población, que esto es igual a 0.5, “q” es el resultado de 1-p que equivale a 0.5 y “e” es el error muestral deseado, el cual corresponde a un 5%. Una vez sustituidos los parámetros, se obtuvo, por medio de la fórmula, un tamaño de muestra correspondiente a 124 participantes, y se optó por redondear a 150 individuos.

El estudio se apegó a la declaración de Helsinki actualizada en el año 2000 y a la legislación local vigente. Además, se encuentra clasificado como categoría II, Investigación con riesgo mínimo, del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, en su Título Segundo de los Aspectos Éticos de la Investigación en Seres Humanos, Artículo 17. Se le entregó un formato a cada participante para el registro de los datos necesarios a tomar en cuenta para la realización del estudio, así como una carta de consentimiento informado para la toma de muestra.

#### A) Preparación de reactivos.

- Suero Anti-A: Diluir 1 mL del antisuero en 10 mL de solución buffer (1:10).
- Suero Anti-B: Diluir 1 mL del antisuero en 10 mL de solución buffer (1:10).
- Suero Anti-AB: Diluir 1 mL del antisuero en 10 mL de solución buffer (1:10).
- Suero Anti-H: Diluir 6 mL del antisuero en 6 mL de solución buffer (1:1).

#### B) Preparación de las células testigo.

Se realizaron suspensiones al 3% de eritrocitos de grupos conocidos O, A y B, en buffer salino de la siguiente manera: 1 mL de muestra sanguínea con EDTA (anticoagulada) se le agregó 4 mL de solución salina fisiológica (SSF) y se centrifugó a 3200 rpm durante 30 segundos, se retira el sobrenadante. Con el paquete globular obtenido se vuelven a agregar 4 mL de SSF y procede a centrifugar nuevamente,



repitiendo hasta obtener un sobrenadante totalmente claro. Una vez obtenido, se toman 4 gotas del paquete globular de eritrocitos y se añadirán a 6 mL de SSF, para obtener una concentración al 3%.

*C) Preparación de las muestras.*

Se impregna de saliva dos hisopos de algodón por sus extremos, teniendo un total de 4 cabezas de algodón para el análisis, las cuales se pondrán a secar a temperatura ambiente, ocultos de la luz solar, durante una semana. Una vez secos los algodones de los hisopos, se prosigue a deshilarlos, para a partir de ellos tomar al azar, de cualquier parte del algodón deshilado, una muestra de algodón impregnado (seco) formando una pequeña esfera de aproximadamente 5 mm de diámetro.

Se toma cuatro tubos de ensaye de 12 x 75 y se marcaron cada tubo con las letras A, B, AB y O, posteriormente a cada tubo se le agregará una de las esferas de algodón formadas anteriormente en la preparación de la muestra. Se agregan 3 gotas de antisueros de la siguiente manera:

- A). Al tubo marcado con A, se agrega antisuero Anti-A.
- B). Al tubo marcado con B, se agrega antisuero Anti-B.
- C). Al tubo marcado con AB, se agrega antisuero Anti-AB.
- D). Al tubo marcado con O, se agrega antisuero Anti-H.

Se agita vigorosamente el tubo con la muestra y el antisuero, dejando reposar durante 30 min. Una vez pasado el tiempo se coloca en refrigeración durante 48 hr (4°C). Al terminar el lapso del tiempo, se deja reposar a temperatura ambiente durante 30 min y se agrega a cada tubo 3 gotas de SSF. Se centrifugarán las muestras a 3000 rpm durante 30 segundos, se retira el algodón del tubo y se trabaja con el sobrenadante. Al sobrenadante se le agrega 1 gota de la solución de eritrocitos a 3% y una vez colocada la gota, se agita mecánicamente durante 11 minutos y se deja en reposo durante 30 min para que se lleve a cabo la reacción. Una vez transcurrido el tiempo se coloca una gota de la reacción en un portaobjetos previamente identificado, el cual se cubre con un portaobjetos para posteriormente observar al microscopio, y determinar si se cuenta con la presencia o ausencia de aglutinaciones.

*D) Interpretación.*

- Si se observa aglutinación con Anti-A, Anti-B y Anti-AB, pero no con Anti-H, el grupo será O
- Si se observa aglutinación con Anti-B, y parcialmente con Anti-AB pero no con Anti-A, el grupo será A
- Si se observa aglutinación con Anti-A, y parcialmente con Anti-AB pero no con Anti-B, el grupo será B
- Si no se observa aglutinación con Anti-A, Anti-B ni Anti-AB, pero si con Anti-H, el grupo será AB

*E) Determinación de grupo sanguíneo en muestra de sangre.*

Las muestras de sangre se obtuvieron en ayuno de 12 horas, con el individuo sentado por espacio de 10 minutos. Con vacutainer y agujas desechables se extrajeron 3 ml de sangre en un tubo con EDTA como anticoagulante para posteriormente realizar la tipificación del grupo sanguíneo con el uso de

antisueros comerciales. Todas las determinaciones se realizaron en el Laboratorio de Bioquímica del Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías de la Universidad de Guadalajara.

#### IV. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para este estudio se desarrollará una estadística descriptiva paramétrica para lo cual los resultados serán capturados en una base de datos en Excel, para obtener las tablas de frecuencias e histogramas de los diversos grupos sanguíneos.

#### V. DISCUSIÓN Y RESULTADOS

Se incluyeron un total de 147 muestras de saliva de los estudiantes de la carrera de Químico Farmacéutico Biólogo del Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías (CUCEI), de los cuales entran en un rango de edad de 18 a 29 años, siendo 105 femeninas (71.4%) y 42 masculinos (28.6%) de la población total estudiada.

De la muestra sanguínea de los participantes, se determinó el grupo sanguíneo y se obtuvo: 44 muestras para el grupo sanguíneo A, 15 para B, 2 para AB y 86 para O.

Al analizar las muestras de manchas secas de saliva para la obtención de los grupos sanguíneos por medio del método de absorción-inhibición, se obtiene 42 individuos con grupo A, para el grupo sanguíneo B fueron 9 participantes; en el grupo sanguíneo AB solo hubo 1 individuo, y 95 muestras para el grupo O.

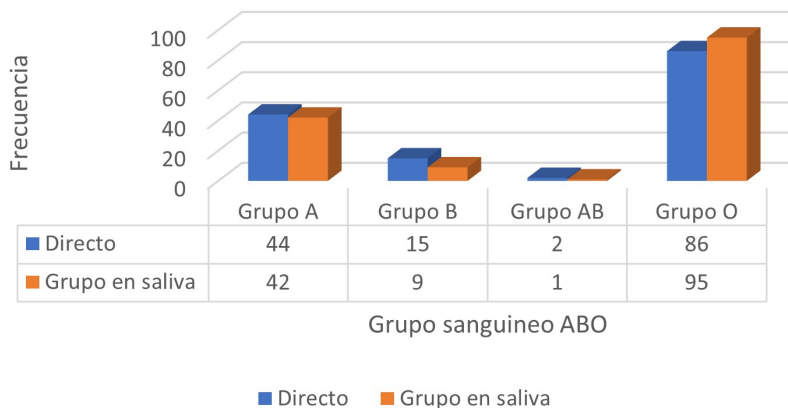


Fig. 1. Frecuencia grupos sanguíneos en sangre (directo) vs el grupo sanguíneo en la mancha de saliva.

De la muestra sanguínea de los participantes, se procesó para la determinación del grupo sanguíneo de manera directa, teniendo las siguientes aglutinaciones: 44 muestras para el grupo sanguíneo A, 15 para B, 2 para AB y 86 para O, como se puede observar en la Figura 1. Posteriormente se puede observar en la columna de color naranja la obtención del grupo sanguíneo en las manchas secas de saliva de los 147 participante por medio del método de absorción-inhibición; se tiene un total de 42 sujetos con el Grupo A, para el grupo B se observaron 9; para el grupo AB se obtuvieron 1 sujeto y del grupo O, el resultado fue de 95 individuos, tal como se observa en la Figura 1.

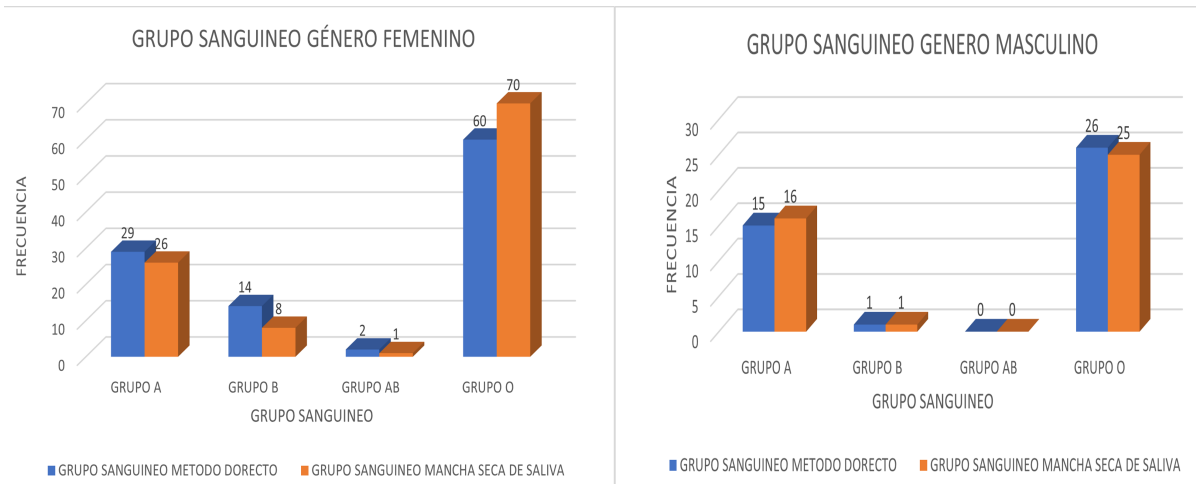


Fig. 2. Comparación del grupo sanguíneo ABO por género por el método directo vs el obtenido de la mancha de saliva.

De las 105 muestras de participantes del género femenino que se obtuvieron a través de grupo directo, como se observa en la Figura 2 29 (27.5%) corresponden un grupo A, y el grupo determinado en la mancha seca de saliva se presentaron 26; de las 14 (13.5%) con un grupo B en el grupo directo, se obtuvieron 8; de 2 (1.9 %) con un grupo AB de manera directa, tan solo se mostró 1 participante, y de 60 (57.1 %) con un grupo O de manera directa, se identificaron 70 con este grupo en la mancha seca de saliva.

Por otro lado de las 42 muestras de participantes del género masculino que se obtuvieron, a través de grupo directo 15 (35.7%) con un grupo A hubo 16 sujetos con este grupo en la mancha seca de saliva; 1 (2.4 %) participante con un grupo B con la determinación directa en sangre mientras que en la mancha seca de saliva también se obtiene 1 individuo; de 26 (61.9 %) con un grupo O de manera directa , en la mancha seca de saliva fueron 25 individuos y para el grupo AB en ambas determinaciones no hubo ningún individuo.



Fig. 3. Coincidencia (%) entre el grupo sanguíneo por el método directo vs. absorción-inhibición en saliva.

De los 147 participantes involucrados en este estudio, tan solo a 133 participantes se logró obtener un grupo sanguíneo específico a través del método absorción-inhibición, no obstante, de estos, solo 120 (81.63%) coincidieron al grupo directo correspondiente, y los 13 (8.84%) participantes restantes se

obtuvo un grupo sanguíneo diferente al proporcionado por el método directo. Quedando un total de 14 participantes (9.53%) donde se obtuvo un grupo sanguíneo diferente en la mancha seca de saliva, como se observa en la Figura 3.

En base a los datos presentados anteriormente, se utilizó un programa gratuito en línea llamado “Social Science Statistics” para el cálculo de Chi-cuadrado ( $X^2$ ) comparando los 2 grupos: grupo directo, y el grupo I: para el grupo obtenido en la mancha seca de saliva. Obteniendo los resultados que se muestran a continuación:

Tabla II. Datos del Grupo directo y Grupo I: grupo sanguíneo en mancha seca de saliva.

Grupo directo			Grupo I: Grupo sanguíneo en mancha seca de saliva		
	N observado	N esperado		N observado	N esperado
A	44	43	A	42	43
AB	2	1.5	AB	1	1.5
B	15	12	B	9	12
O	86	90.5	O	95	90.5
TotalL	147		TOTAL	147	

\*N= Tamaño de la muestra

Tabla III. Prueba estadística  $X^2$ : Grupo directo vs Grupo I: grupo sanguíneo en mancha seca de saliva.

<b>Chi-cuadrado</b>	2.3274
<b>Grados de libertad</b>	3
<b>Valor de <math>p</math></b>	0.5073, $p > 0.05$

Al comparar los grupos sanguíneos entre los obtenidos por el Grupo directo y el obtenido en la mancha seca de saliva (Grupo I); como se observa en la Tabla III, con la prueba Chi-cuadrada, se puede concluir con un 95% de confianza, que las diferencias observadas no son estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ ); por lo que la determinación del grupo sanguíneo ABO en muestras de saliva de la primera toma (en ayunas) de los participantes por medio del método absorción-inhibición, no presentó diferencias estadísticamente significativas en comparación con el grupo ABO obtenido en sangre con el método directo.

Los resultados obtenidos con las pruebas de las manchas secas de saliva muestran que la sensibilidad de la prueba para determinar el grupo sanguíneo es suficiente teniendo en cuenta el acondicionamiento previo de las muestras, contando con la detección correcta del grupo sanguíneo de 120 (81.63%) participantes de un total de 147, dando por hecho también que estos participantes son secretores.

Sin embargo, también es evidente el restante, teniendo 13 (8.84%) participantes de los cuales se contó con un grupo sanguíneo completamente diferente al obtenido de manera directa ya que coincidía en la mancha seca de saliva a través del método absorción-inhibición, no obstante, este hecho no concluye que se refiera a individuos no secretores, sino que va más arraigado a la información brindada por Mollison, Engelfriet y Contreras en 1997[17], que nos explica el proceso de la biosíntesis teniendo una gran importancia el origen del antígeno H donde posteriormente se forman los determinantes para los grupos sanguíneos A o B, por la adición de azúcares específicos, y no solo eso, sino que también va ligado a los subgrupos de los grupos A y B, donde poseen menos antígenos en la superficie de los eritrocitos, y donde además la transferasa A1, es más eficiente que la transferasa A2 en convertir la

sustancia H al antígeno A, lo que esto puede conllevar discrepancias en la prueba directa clasificándola como grupo de tipo O, pero en la prueba indirecta la clasifica como A o B.

Este punto también se ve justificado en el trabajo realizado por Soyza en 1991[34], en el que en 130 muestras de saliva, 11 (8%) no lograron dar un resultado significativo para ningún antígeno, a pesar de que se trabajó por medio de ELISA y antisueros Lewis. Dando como resultado que algunas de estas muestras podrían ser de individuos no secretores de Le (a-b-). Sin embargo, en base a la bibliografía que se consultó, solo aproximadamente el 2% de la población general son no-secretores de Le (a-b-) y, por lo tanto, los resultados negativos también podrían reflejar el deterioro de las muestras de saliva de trabajo de casos durante el almacenamiento y el transporte. En el curso de estos experimentos se encontró un problema en la detección del antígeno A de una tinción de saliva A2B. El ensayo no pudo detectar el antígeno A, cuyo problema se logró resolver a partir de una concentración mayor de anti-A. Sin embargo, las pruebas en 35 muestras del grupo AB mostraron que un antígeno se detectó preferentemente, dependiendo del subtipo de A. Es decir, en la mayoría de las muestras del grupo A1B, la cantidad de A detectada fue mayor que B y en las muestras de A2B fue viceversa. En algunas manchas se detectó un antígeno y no el otro. Por lo tanto, cuando solo se detectaron reacciones A o B, se consideró apropiado incluir la posibilidad de que la mancha pudiera haberse originado a partir de un A o AB o un B o AB, respectivamente.

Además, este punto también se ve justificado por Pereira y Martin [32], quienes reportan que los fluidos corporales de los secretores del grupo AB también pueden dar reacciones engañosas, puesto que encontraron algunas muestras que contenían concentraciones muy bajas de sustancia A, las cuales solo fueron detectadas por absorción.

Retomando los participantes restantes del presente estudio, quedando pendientes los 14 (9.53%) que se obtuvo un grupo sanguíneo diferente en la mancha seca de saliva en comparación con la muestra directa, estos no se pueden descartar ni dar por hecho que se trate de individuos no secretores, ya que los puntos tratados anteriormente en esta discusión también justifican a estos participantes, sin embargo, también podría tratarse de otros factores que podrían haber intervenido en la práctica experimental, ya sea factores propios del individuo como son las cargas opuestas de antígenos y anticuerpos, concentración de antígeno y anticuerpo (“efecto prozona”), componentes de la misma saliva como son las mucinas, las cuales tienen una extensa glicosilación ligada a O y son producidas en secreciones mucosas, las cuales están reguladas por el gen MUC5B que a su vez es el responsable de la producción del antígeno principal del antígeno sacárido precursor, el Epítipo H; sin dejar de lado también la flora bacteriana que interactúan con las porciones de carbohidratos de las moléculas receptoras, que en este punto podría verse reflejado para los resultados obtenidos de la primera toma que es cuando el participante guarda una buena carga bacteriana del transcurso de la noche, sin tomar en cuenta su rutina de aseo bucal.

Por ello se puede llegar a las siguientes conclusiones:

1. Si fue posible determinar el porcentaje de expresión del grupo sanguíneo ABO en individuos secretores a través manchas secas de saliva por medio del método absorción-inhibición, obteniendo 42 sujetos (28.6%) del grupo A, 9 individuos (6.1%) del grupo B, 1 solo sujeto (0.7%) con el grupo AB y 95 sujetos (64.6%) del grupo O.
2. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la comparación entre los grupos de muestra sanguínea directa, el obtenido en la mancha seca de saliva por medio del método absorción-inhibición; ya que el valor obtenido de p de la  $X^2$  fue mayor a 0.05.

## REFERENCIAS

- [1] (S/f). Criminalistica.mx. Recuperado el 10 de octubre de 2023, de <https://criminalistica.mx/descargas/documentos/pdf/TecnicasHematologiaForense>.
- [2] Silveyra, J. O., & Silveyra, P. (2006). Sistemas de identificación humana: historia de la identificación humana, papiloscopia, antropología forense, odontología forense, identificación por el rostro, identificación por la voz, sistemas biométricos, identificación por ADN, tatuajes. La Rocca.
- [3] Moreno González, L. (2002). Introducción a la criminalística. México: Editorial Porrúa.
- [4] Peschel, O., Kunz, S. N., Rothschild, M. A., & Mützel, E. (2011). Blood stain pattern analysis. *Forensic science, medicine, and pathology*, 7, 257-270.
- [5] Hurley, I. P., Cook, R., Laughton, C. W., Pickles, N. A., Ireland, H. E., & Williams, J. H. (2009). Detection of human blood by immunoassay for applications in forensic analysis. *Forensic science international*, 190(1-3), 91-97.
- [6] Counsil, T. I., & McKillip, J. L. (2010). Forensic blood evidence analysis using RNA targets and novel molecular tools. *Biologia*, 65, 175-182.
- [7] Bittencourt, E. A. A., Soares-Vieira, J. A., Angeramis, N. G., da Silva, C. E., da Rocha Hirschfeld, R. C., & Iwamura, E. S. M. (2009). The analysis of biological samples from crime scene for a future human DNA profile confrontation. Effects of presumptive test reagents on the ability to obtain STR profiles for human identification. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 2(1), 194-195.
- [8] Palmela Pereira, C. (2014). A importância médico-legal e criminalística da saliva: sistematização da sua aplicação nas ciências forenses. *Revista Portuguesa de Estomatologia Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial*, 55(1), 3–6. <https://doi.org/10.1016/j.rpemd.2014.01.002>
- [9] Ramsey, K., & Burton, E. (2013). Escena del crimen a la corte. In J. A. Siegel (Ed.), *Encyclopedia of Forensic Sciences* (pp. 439–442). Academic Press.
- [10] Pereira, C., & Santos, T. (2009). Recolección de evidencias de la marca de un diente en la escena del crimen: importancia de los materiales dentales en odontología forense. *Rev Puerto Estomatol Cir Maxilofac*, 50, 141–144.
- [11] Silva R, Musse J, Melani R et all. Identificación de marcas de mordeduras humanas y tecnología de ADN en odontología forense. (2006). *Braz J Oral Sci*, 5(1).
- [12] Alberto, C., & García, A. (2009). Sistema de grupo sanguíneo ABO. *Medigraphic.com*. <https://www.medigraphic.com/pdfs/medlab/myl-2009/myl097-8c.pdf>
- [13] Alfonso Valdés, Y., & Bencomo Hernández, A. (2001). Procedimientos para la detección e identificación de anticuerpos eritrocitarios. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 17(2), 98–107. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-02892001000200003](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892001000200003)
- [14] Roitt, I. M. (1984). *Essential Immunology* (5th ed.). DA Information Services.
- [15] Pico, M. C., Giralдино, I. G., & Otero, A. (1997). *Inmunología experimental*.
- [16] Klein, H. G., & Anstee, D. J. (2014). *Mollison's blood transfusion in clinical medicine* (12th ed.). Wiley-Blackwell.
- [17] Buelvas Armando, C., Díaz Eduardo, M., & De González, L. (2014). *Inmunohematología básica y aplicada*.
- [18] Salmon, C., & Cartron, J. (1977). *CRC Handbook Series in clinical Laboratory Science. Blood Banking* (Vol. 1). CRC Press, Inc., Florida.

- [19] Amano, J., Straehl, P., Berger, E. G., Kochibe, N., & Kobata, A. (1991). Structures of mucin-type sugar chains of the galactosyl transferase purified from human milk. Occurrence of the ABO and Lewis blood group determinants. *J. Biol. Chem.*, 266(18), 11–461.
- [20] De Ambriz, M. F. (2002). Hematología forense: y otras técnicas serológicas.
- [21] Edgar, W. M. (1992). Saliva: its secretion, composition and functions. *British Dental Journal*, 172(8), 305–312. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.4807861>
- [22] De Odontología Saliva-Blood Groups, A. de lo A. C. (n.d.). Bioquímica general y estomatológica Saliva-Grupos Sanguíneos. Edu.Ar. Retrieved October 10, 2023, from [https://bdigital.uncu.edu.ar/objetos\\_digitales/8181/ruizrfo-922015.pdf](https://bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/8181/ruizrfo-922015.pdf)
- [23] Levine, M. J. (1993). Salivary macromolecules: A structure/function synopsis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 694(1), 11–16. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1993.tb18337.x>
- [24] Moniaux, N. (2001). Structural organization and classification of the human mucin genes. *Frontiers in Bioscience*, 6(1), d1192. <https://doi.org/10.2741/moniaux>
- [25] Nielsen, P. A., Bennett, E. P., Wandall, H. H., Therkildsen, M. H., Hannibal, J., & Clausen, H. (1997). Identification of a major human high molecular weight salivary mucin (MG1) as tracheobronchial mucin MUC5B. *Glycobiology*, 7(3), 413–419. <https://doi.org/10.1093/glycob/7.3.413>
- [26] Wickström, C., Davies, J. R., Eriksen, G. V., Veerman, E. C. I., & Carlstedt, I. (1998). MUC5B is a major gel-forming, oligomeric mucin from human salivary gland, respiratory tract and endocervix: identification of glycoforms and C-terminal cleavage. *The Biochemical Journal*, 334(3), 685–693. <https://doi.org/10.1042/bj3340685>
- [27] Thornton, D. J., Khan, N., Mehrotra, R., Howard, M., Sheehan, J. K., Veerman, E., & Packer, N. H. (1999). Salivary mucin MG1 is comprised almost entirely of different glycosylated forms of the MUC5B gene product. *Glycobiology*, 9(3), 293–302. <https://doi.org/10.1093/glycob/9.3.293>
- [28] Prakobphol, A., Leffler, H., & Fisher, S. J. (1993). The high-molecular-weight human mucin is the primary salivary carrier of ABH, Lea, and Leb blood group antigens. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine: An Official Publication of the American Association of Oral Biologists*, 4(3), 325–333. <https://doi.org/10.1177/10454411930040031001>
- [29] Huang, P., Farkas, T., Zhong, W., Tan, M., Thornton, S., Morrow, A. L., & Jiang, X. (2005). Norovirus and histo-blood group antigens: Demonstration of a wide spectrum of strain specificities and classification of two major binding groups among multiple binding patterns. *Journal of Virology*, 79(11), 6714–6722. <https://doi.org/10.1128/jvi.79.11.6714-6722.2005>
- [30] Tan, M., Jin, M., Xie, H., Duan, Z., Jiang, X., & Fang, Z. (2008). Outbreak studies of a GII-3 and a GII-4 norovirus revealed an association between HBGA phenotypes and viral infection. *Journal of Medical Virology*, 80(7), 1296–1301. <https://doi.org/10.1002/jmv.21200>
- [31] Pereira, M., & Martin, P. D. (1976). Problems involved in the grouping of saliva, semen and other body fluids. *Journal - Forensic Science Society*, 16(2), 151–154. [https://doi.org/10.1016/s0015-7368\(76\)71047-8](https://doi.org/10.1016/s0015-7368(76)71047-8)
- [32] Vengelen-Tyler V. 1996. Technical manual. 12th ed. Bethesda: American Association of Blood Banks. p. 109-111
- [33] Soyza, K. (1991). Evaluation of an enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) method for abo and Lewis typing of body fluids in forensic samples. *Forensic Science International*, 52, 76–65.
- [34] Análisis de datos de Expresión Genética mediante técnicas de Biclustering. (2006, mayo). <http://www.lsi.us.es/docs/doctorado/memorias/Memoria-v2.pdf>. Recuperado 23 de octubre de 2023,