

SEMEN KONTAMİNE VAJİNAL MATERYALDE PROTEİNAZ K İLE SPERMATOOZOA İZOLASYONU VE ABO(H) GRUP TAYİNİ

Spermatozoa Isolation and ABO(H) Group Typing with Proteinase K on Semen Contaminated Vaginal Material

Sema DEMİRÇİN KARAGÖZ*, Beyhan EGE**

Demirçin Karagöz S, Ege B. Semen kontamine vajinal materyalde proteinaz K ile spermatozoa izolasyonu ve ABO(H) grup tayini. Adli Tıp Bülteni 1997; 2(3):118-23.

ÖZET

Seksüel suçlar adı verilen ırza geçme, tasaddi, livata ve zina olaylarında suçun kanıtlanması için genel fizik muayene, jinekolojik bakı ve vajinal materyalin spermatozoa varlığı açısından incelenmesi gereklidir. Saldırının gerçekleştiği ancak failin belli olmadığı olgularda bunlara ek olarak, suçlunun kimliğini belirleyebilmek amacıyla vajinal materyalde genetik işaretler incelenmelidir. Bu çalışmada semen kontamine vajinal sürüntülerde ABO grup tiplmesinde güvenilirliği arttırmak için absorpsiyon-elüsyon ile birlikte proteinaz K kullanımının uygulanabilirliği araştırıldı. Proteinaz K eklendikten sonra vajinal materyal içinde sadece spermatozoidlerin kaldığı ve sonuç olarak elde edilen kan grubunun sadece spermatozoanın antijenik yapısını yansıttığı görüldü. Absorpsiyon-elüsyon tekniği ile Proteinaz K kullanılmadan değerlendirilen örneklerde doğru sonuç elde edilme oranı % 86, proteinaz K kullanılan örneklerde % 82.67 olarak bulundu.

Anahtar Kelimeler: ABO(H) tiplemesi, vajinal materyal, seksüel saldırılar, proteinaz K, spermatozoa.

SUMMARY

Physical and gynecological examinations and detection of spermatozoa in vaginal material are the procedures used to prove the sexual crimes as rape, sexual assault, sodomy and adultery cases. Besides these examinations, assessment of genetic markers in the vaginal material is necessary to identify the offender in cases of sexual assault with unknown perpetrator. In this study, the applicability of an absorption elution technique with proteinase K treatment is investigated to increase the reliability of ABO(H) group typing on semen contaminated vaginal swabs. It was seen that after Proteinase K treatment only spermatozoa remain in vaginal material and blood group obtained in conclusive reflects only the antigenic structure of spermatozoa. It was calculated that ratio of obtaining a true result was 82.67 % with Proteinase K treated samples and 86 % with nontreated samples.

Key Words : ABO(H) typing, vaginal material, sexual assault, proteinase K, spermatozoa.

GİRİŞ

Günümüzde hızla çoğalan nüfusla birlikte işlenen suçların ve buna paralel olarak seksüel saldırı olgularının sayısında önemli bir artış olduğu bilinmektedir (1). Adli makamlar tarafından haklarında rapor düzenlenmesi istenen olguların önemli bir kısmını seksüel saldırıya maruz kaldığı iddia edilen kadınlar, çocuklar, evden kaçan 18 yaşın altındaki kızlar ve zina halinde yakalanan kadınlar oluşturmaktadır (2). Bu olgularda muayeneyle ve vajinal materyalde spermatozoa saptanmasıyla seksüel saldırının gerçekleştiğinin kanıtlanması kadar, saldırganın belirlenmesine yardımcı olmak da adli tıp açısından önemlidir. Bu amaçla, vajinal materyalde genetik işaretler araştırılarak, saldırganın kimliği belirlenmeye çalışılmaktadır (3,4). Ancak halen Adli Tıp Kurumu'nda vajinal sürüntüden saldırganın kimliğinin belirlenmesine yönelik incelemeler rutin olarak yapılmamaktadır.

Semende yer alan "genetik marker"lardan incelenmesi en kolay ve kullanışlı olanı ABO grubudur (5).

Vajinal materyalde saptanan spermatozoidlerin kan grubu substansları üzerinde çeşitli yöntemlerle çalışılmaktadır. Bu çalışmaları daha güvenilir ve uygulanabilir hale getirmek için yeni teknikler geliştirilmiştir. Tüm yöntemler ejakulat sıvısında yer alan kan grubu substanslarının varlığını aglütinasyon ile ortaya koyma esasına dayanmaktadır.

Genetik kurallarına göre bir birey tüm dokularında aynı genetik polimorfizme sahip olmalıdır. ABO kan grubu antijenleri de sadece eritrositler üzerinde değil, aynı zamanda tükürük, gözyaşı, pankreatik ve gastrik sıvılar, ter, mukus, semen, vajinal sekresyon ve idrar gibi tüm vücut sıvıları ve dokularda da (epidermis, dental pulpa vb.) bulunurlar (5-10).

Bir bireyin sudâ çözünebilir tipte kan grubu substanslarını vücut sıvılarına salgılayabilme yeteneğine

* Uzm. Dr., Antalya Devlet Hastanesi, Antalya İl Sağlık Müdürlüğü

** Prof. Dr., Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Adli Tıp Anabilim Dalı, Adli Tıp Kurumu İzmir Grup Başkanlığı

"sekretörlük" adı verilir. Bir toplumdaki sekretörlük oranı çalışmalara göre değişmekle birlikte % 75-85 arasındadır (1-14).

Vajinal materyalde bulunan spermatozoanın kan grubu koitustan sonra 34'üncü saate kadar tetkik edilebilmekte ve 84'üncü saate kadar ABH reaksiyonu için yardımcı olabilmektedir (5, 15). Bu amaçla kullanılan yöntemler absorbsiyon-inhibisyon, absorbsiyon-elüsyon, mikst aglütinasyon, mikro elüsyon- LISS, mikro pellet hemaglütinasyon inhibisyon ve ELIZA gibi yöntemlerdir. (16-20).

Şu ana kadar absorbsiyon-elüsyon yönteminin uygulanışına ait değişik teknikler ortaya atılmış olmasına rağmen hepsinin temeli Landsteiner ve Miller'in sıcak elüsyon tekniğine dayanmaktadır (21). Bu yöntemde ticari olarak kolayca bulunabilen basit Anti A, Anti B ve Ulex Europoeus Lectin'den elde edilen Anti H kullanılmaktadır (5,22,23).

Bir seksüel saldırıda, şüphelilerden hangisinin suç işlediğinin belirlenmesi için saldırganı ait antijenik substansların saptanması gereklidir. Oysa vajinal materyaldeki kan grubu substansları incelenirken saldırgan ve mağdureye ait komponentlerin toplamının reaksiyonları değerlendirilmektedir.

1985 yılında Peter Gill ve arkadaşları semen kontamine vajinal silintilerde proteinaz K inkübasyonundan sonra vajen hücrelerinin lizise uğradığını ve bu materyalden daha sonra spermatozoanın DNA parmakizinin oluşturulabildiğini belirlemişlerdir (24,26).

Bir mikrofungus olan *Tritirachium album* tarafından üretilen Proteinaz K muamelesinden sonra, vajen epitelleri tamamen parçalanıp yıkamalarla ortamdan uzaklaştırıldığından vajene ait antijenik özellikler tümüyle kaybolmaktadır.

Spermatozoidlere ait antijenik görünüm ise nukleuslarının tiyolden zengin çapraz bağlarla bağlanmış proteinleri içeren özel yapısı nedeniyle çok iyi bir şekilde korunmaktadır. (25,26). Böylece bu materyalin kan grubu belirlendiğinde, elde edilen antijenik tablo sadece spermatozoidlere ait olacak ve belirlenen kan grubu, yalnızca saldırganın antijenik yapısını yansıttacaktır (25).

GEREÇ VE YÖNTEM

Kızlık muayenesi ve seksüel ilişkide bulunup bulunmadığının tesbiti için kurumumuza gönderilen ve son üç dört gün içerisinde cinsel ilişki öyküsü bulunmayan 150 kadından, steril koşullarda vajinal yaymalar ve (bir kumaş parçasına vajen içi silinerek elde edilen) silintiler alındı. Olguların kan grupları belirlendi. Yaymalar, HE ve Oppitz yöntemleri ile boyanarak mikroskop altında incelendi. Spermatozoa içermediği saptanan örnekler araştırmaya dahil edildi. Semen örnekleri ise, semeninde sayı, morfoloji ve hareketlilik açısından normal spermatozoa içeren 150 erkekten alındı.

50 Olgudan (20 kadın, 30 erkek) aynı zamanda 10'ar cc tükürük örnekleri alınarak, sekretörlük yönünden test edildi (11,14).

Vajinal silintiler 1x1 cm. büyüklükte kesilerek 1cc PBS (Fosfat-Saline tamponu: Na₂HPO₄.12H₂O, NaH₂PO₄.2H₂O, NaCl; pH: 7.2) içerisinde ekstrakte edildi. 0.1 cc semen ve 0.1 cc vajen ekstraktı tüp içerisinde karıştırıldı. Karışım, Proteinaz K içeren Tris-HCl tamponu (pH : 8.0) ile 37 C°de 30 dk. inkübe edildi.

İnkübasyondan sonra parçalanmış vajen hücrelerini ortamdaki uzaklaştırmak için örnekler 3 kez PBS ile yıkandı. Tüp dibinde kalan materyalle 0.5x0.5 cm.'lik kumaşlar üzerinde lekeler oluşturuldu. Proteinaz K ile muamele edilen ve edilmeyen tüm örneklerin kan grupları laboratuvar şartlarımıza uygun olduğu için, absorbsiyon-elüsyon yöntemi ile araştırıldı. Bunun için kurutulmuş lekeli kumaş parçaları üzerine Anti A, Anti B ve Anti H damlatıldı. Gece boyunca +4 C°de absorbsiyon için bekletildikten sonra soğuk serum fizyolojikle 5-7 kere çalkalanarak, absorbe olmayan antikorların tümü ortamdaki uzaklaştırılmış oldu. Daha sonra 10-30 dk. boyunca 55-56 C°de su banyosunda elüsyon işlemi uygulandı.

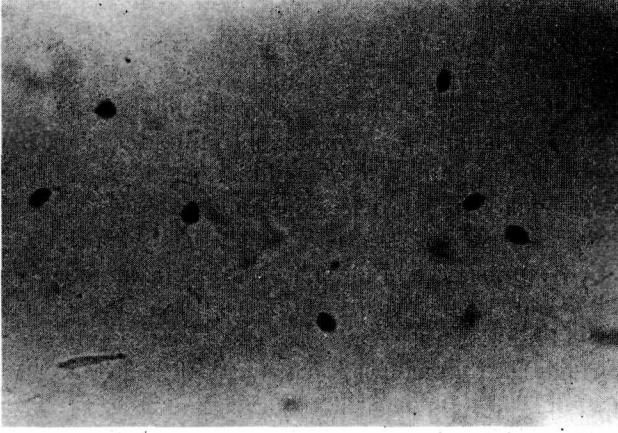
Elüsyon süresi dolunca kumaş parçaları tüplerden çıkarıldı ve her tüpe uygun A, B ve O grubu eritrositler eklenerek 1 dk. 1000 devirde santrifüj yapıldı. Tüp dipleri konkav bir ayna yardımıyla makroskobik olarak ve şüpheli olgularda mikroskobik olarak (en küçük objektifte) incelendi. Reaksiyonlar, aglütinasyonun şiddetine göre (-), (+), (++) , (+++) şeklinde kaydedildi (27).

Proteinaz K ile muamele edilmeyen örnekler de aynı şekilde test edilerek sonuçları kaydedildi. Değerlendirmeler sırasında tüpler numaralanarak araştırmacının içindeki örnekleri ve gruplarını bilmediği bir çalışma sağlanmış oldu.

Deneyler sırasında negatif kontrol olarak, her yıkama grubu için en az bir veya daha fazla lekelenmemiş kumaş üzerine Anti A, Anti B ve Anti H damlatılarak



Resim 1 : Proteinaz K ile muamele edilmemiş örnekte vajen epitelleri ve spermatozoidlerin görünümü (Oppitz x1000).



Resim 2 : Proteinaz K ile muamele edilmiş örnekte, vajen epitelleri parçalanıp, yıkamalarla ortamdan uzaklaştırıldıktan sonra spermatozoidlerin görünümü (Oppitz x1000).

örneklerle birlikte absorpsiyon, yıkama ve elüsyon işlemleri uygulandı.

Proteinaz K muamelesinden sonra spermatozoidlerin ileri derecede azaldığı ya da spermatozoid başlarının mikroskopik olarak rahatça görülebilecek şekilde deforme olduğu az sayıda olgu ile negatif kontrolleri (+) sonuç veren gruplar çalışmaya dahil edilmedi.

Bütün örnekler araştırmanın her aşamasında deneyin kontrolü için HE ve Oppitz yöntemleri ile boyanarak mikroskop altında incelendi.

BULGULAR

150 sperm ve 150 vajinal ekstrakta ait sonuçlar 4 tablo halinde verilmiştir. Sekretörlük yönünden test edilen 20 kadından 4'ü ve 30 erkekten 5'i nonsekretör olarak bulunmuştur. Deneklerin saptanan sekretörlük durumları tablolarda belirtilmiştir. Toplam olarak 50 örnekten 9'u nonsekretör olup nonsekretörlük oranı % 18'dir.

Proteinaz K ile muamele edilmemiş ve hem vajinal hem de seminal materyal içeren grupta absorpsiyon elüsyon yöntemi ile 129 örnek çiftinin kan grubu substansları doğru olarak saptanabilmiş (% 86), proteinaz K ile muamele edilmiş ve sadece semen içeren grupta ise bu yöntem ile 124 örnek çiftinde doğru sonuç elde edilmiş (% 82.67), diğerlerinde en az bir antikor ile yanlış negatif ya da yanlış pozitif sonuç izlenmiştir.

Anti H ile yanlış pozitif reaksiyon izlenmemiş, proteinaz K (-) grupta anti A ile 2, anti B ile 9; proteinaz K (+) grupta anti A ile 7, anti B ile 13 örnek çiftinde yanlış pozitif sonuç alınmıştır.

Proteinaz K (-) grupta anti A ile 3, anti B ile 1, anti H ile 8 örnek çiftinde; proteinaz K (+) grupta anti A ile 1, anti B ile 1, anti H ile 6 örnek çiftinde yanlış negatif sonuç elde edilmiştir.

TARTIŞMA

Sonuçları 4 tablo halinde verilen, toplam 150 örnek çiftinin kan gruplarının, doğru olarak saptanabilme oranı Proteinaz K ile muamele edilmemiş semen ve vajinal ekstrakta ait grupta % 86.00, Proteinaz K ile inkübe edilen sadece semen içeren grupta ise % 82.67 olarak bulunmuştur. Kaynaklarda; vajinal materyalde absorpsiyon-elüsyon yöntemi ile kan gruplarının saptanmasında çok değişik doğruluk oranları elde edildiği belirtilmektedir. Davies (5) A, B ya da AB sekretör semenlere ait lekelerin % 90'ında kesin reaksiyon elde edildiğini, O sekretör semenlere ait lekelerin yaklaşık yarısında kesin reaksiyon izlenmediğini, A ve B grubu seminal lekelerin gruplamasında, sırasıyla % 67, % 66 oranında doğru sonuç elde edildiğini bildirmiştir. Fowler (2) ise semen lekelerinin % 23.7'sinin kesin olmayan sonuç verdiğini belirtmiştir.

50 tükürük örneğinin sekretörlük durumu incelendiğinde toplam 9 kişi nonsekretör olarak bulunmuştur. Bu da % 18 oranında bir nonsekretörlük durumunu yansıtmakta ve kaynaklarla uyum sağlamaktadır (12,13).

A ve B antikorlarının optimum aktiviteyi yeterince yüksek bulunduğundan yanlış negatif ve zayıf reaksiyonlarının nonsekretörlüğe bağlı olduğu düşünülmüştür.

Hem Proteinaz K (-), hem de Proteinaz K (+) örneklerde Anti H ile yanlış pozitiflik izlenmemiştir. Bu antikor ile zayıf reaksiyonlar I. tablodaki 13, 22, 23, 26, 38. vajinal örneklerde ve II. tablodaki 3, 9, 10, 11, 15., III. tablodaki 1, 3., IV. tablodaki 2, 10, 11. örneklerin semeni ile elde edilmiştir. Bunlardan I. tablodaki 4. vajen ve II. tablodaki 3. semen örneklerinin nonsekretör bireylere ait oldukları bilindiğinden zayıf reaksiyon vermeleri beklenen bir durumdur. Ancak Tablo I'deki 23. vajen ve Tablo IV'deki 11. semen örneklerinin, Proteinaz K (-) ve (+) durumunda zayıf Anti H reaksiyonu vermelerine rağmen sekretör bireylerden kaynaklandıkları bilinmektedir. Böylece, Anti H ile zayıf reaksiyonlar nonsekretörlüğe bağlı olabileceği gibi bu antiserum ile yanlış negatif veya zayıf reaksiyon elde edilme sıklığının fazla olması ve hiç yanlış pozitif sonuç elde edilmemesi, burada olduğu gibi, Anti H aktivitesinin düşüklüğünden de kaynaklanabilmektedir.

Proteinaz K (-) grupta yanlış pozitif A reaksiyonu veren örnekler Tablo I'de 25., Tablo III'de 7. örnekler olmak üzere iki adettir. Bu zayıf, yanlış pozitif Anti A reaksiyonları, (kontroller negatif olsa da) absorpsiyon evresinden sonraki yıkama işleminin yetersizliğine bağlanabilir.

Yanlış pozitif B reaksiyonuna, Tablo I'deki 5,10,11,12,14,18., Tablo II'deki 1,9,14., Tablo IV'deki 3,9,11. örneklerde rastlanmıştır.

Tablo I'deki 5,10,12. örnekler ile Tablo II'deki 1. örnekte izlenen yanlış B reaksiyonları daha kuvvetli

olduğundan ve özellikle Tablo I'deki 10 ve 12. örneklerdeki yanlış reaksiyon Proteinaz K eklenen tüplerde de devam ettiğinden, öncelikle kazanılmış B reaksiyonunu (enfeksiyon kontaminasyonu) (13,28) düşündürmektedir.

Proteinaz K'nın, organik, inorganik ya da mikroorganizma gibi diğer kan grubu reaksiyonu verebilecek kaynaklar için etkisi literatürlerde belirtilmemiştir. Ancak Kubo ve arkadaşları (25), Proteinaz K ile muamele edilen örneklerde, spermatozoa başlarının, büyüklük ve morfolojik görünüm açısından mikroorganizmalardan farklı olduğunu belirttiklerinden, bu tipteki antijenik kaynakların tümünün harabedilmesi söz konusu olmayabilir. Bu bilgilerin ışığında, yukarıda anlatılan tipteki sonuçlar, kazanılmış B reaksiyonu şeklinde açıklanabilir.

Buradaki yanlış pozitif B reaksiyonları ikinci olarak Anti B aktivitesinin yüksekliği, üçüncü olarak ise yıkama yetersizliğini akla getirmektedir. Özellikle fazla sayıda yanlış pozitif sonuç elde edilmesi sebebiyle, diğer örnekler için son iki durum daha uygundur.

Proteinaz K (+) grupta ; II. tablodaki 2, 4 ve 22. örneklerde izlenen yanlış A reaksiyonları, kuvvetli olmalarına rağmen enfeksiyonu düşündürmemiştir. Çünkü bu örnekler A grubu vajinal ekstrakt ile karıştırılarak incelenmiş ve Proteinaz K muamelesi ile yıkamalardan sonra hazırlanan yaymalarda, bazı alanlarda birkaç vajen epiteli ve rahatça izlenebilecek miktarda parçalanmış epitel artıkları görülmüştür. Sonuç olarak bu iki örnekteki yanlış pozitif A reaksiyonları vajen hücrelerinin ortamdan tamamen uzaklaştırılmamasına bağlıdır. Çalışma boyunca bu tip sonuç elde edilen gruplar tekrar işleme alınmıştır. Ancak bu sonuçlar konuyu vurgulamak bakımından araştırmaya dahil edilmiştir.

Proteinaz K (+) grupta yanlış pozitif B reaksiyonları, III. tabloda 1-18. örneklerde parçalanmış vajen hücrelerinin ortamdan tamamen uzaklaştırılmaması, yetersiz yıkama yada Anti B aktivitesinin yüksekliğine; diğer tablolarda izlenenler ise son iki duruma bağlanabilir.

Yanlış negatif sonuç veren gruplarda "*prozon fenomeni*"ni ekarte etmek için dilüe örneklerle de çalışılmış, ancak sonuç pozitif hale gelmemiş ve prozon olayına rastlanmamıştır.

Bu testte elde edilen reaksiyonların kuvveti pek çok faktörle değişebildiğinden aberrant ve paradoks sekresyonlar için yorum yapmamak ve birkaç yöntemin bir arada kullanıldığı daha güvenilir ve karşılaştır-

malı testlerle çalışmak doğru olacaktır. Burada, AB grubu bireylere ait örneklerde, A reaksiyonu sıklıkla B'den daha zayıf olmasına rağmen bu durum Anti B aktivitesinin, Anti A aktivitesinden yüksek olmasına bağlanmıştır. Bakteriyel veya fungal gibi organik veya toprak vb. gibi inorganik kontaminasyonlara bağlanmamıştır (28-32).

Kan grubu bilinmeyen örneklerle yapılan testlerde sonuçları yorumlamak zordur. Çünkü elde edilen zayıf pozitif aglütinasyonların materyalin nonsekretör kaynaktan elde edilmesi, enfeksiyon kontaminasyonu ya da yıkama evresinde (kontroller negatif sonuç verse bile) işlemin yetersizliği gibi sebeplerin hangisinden kaynaklandığı açıklanamaz. Burada kan grubu bilinen örneklerle çalışıldığından sonuçları yorumlamak daha kolay olmuştur. Bu nedenle mağdure ve şüphelilerin kan grupları ve sekretörlük durumlarının belirlenerek çalışmaya başlanması daha uygundur. Reaksiyonlar tablolarda görüldüğü gibi, genelde sekretör kişilerin örnekleriyle daha kuvvetli, nonsekretör kişilerin örnekleriyle ise daha zayıf olmaktadır. Kaynaklarda aspermi veya azospermisi olan olgularda mukusa veya tere ait kan grubu reaksiyonlarının elde edilebileceği bildirilmektedir. Ancak yine de bu tip olgularda semene ait farklı "marker"ları gösteren yöntemlerin (Prostatik asit fosfataz, Presipitin testi, Prostat spesifik antijen-p30 gibi) uygulanması yerinde olacaktır (2,3). Tüm tablolardaki kan grubu sonuçları değerlendirildiğinde absorpsiyon-elüsyon testi ile Proteinaz K (-) gruplarda hem vajen epitelinin hem de spermatozoanın kan grubu antijenik görünümünün elde edildiği ortaya çıkmaktadır. Proteinaz K tarafından parçalanmış ve yıkamalarla ortamdan uzaklaştırılan vajen epiteli ile birlikte vajinal kan grubu substansları da ortamdan uzaklaştırılmakta ve reaksiyonları etkileyememektedir. Böylece elde edilen reaksiyonlar sadece spermatozoanın kan grubunu yansıtmaktadır. Proteinaz K ile yapılan kan grubu çalışmalarında ; yüksek miktarda (örneğin % 0.4 mg. ve fazlası) Proteinaz K kullanıldığında veya uzun süre inkübasyon uygulandığında (örneğin 1 saat) spermatozoa başlarında parçalandığından kan gruplarına ait reaksiyon izlenemekte ve semen kan grubu reaksiyonunun şiddetinde Proteinaz K'sız örneklere nazaran azalma ortaya çıkabilmekte; bu durumlar dışında, Proteinaz K spermatozoa kan grubu sonuçlarını etkilememektedir. Absorpsiyon-elüsyon yöntemi yerine daha güvenilir yöntemlerle birlikte Proteinaz K kullanımı daha yüksek oranda doğru sonuçlar elde edilmesini sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Criminal Statistics of the Federal Statistical Office of Germany, 1992-1994; 1. (Source : Federal Criminal Police Office).
2. Karagöz YM, Atılğan M. Antalya'da 1987-1993 yıllarında yapılan 884 kızlık muayenesinin değerlendirilmesi. Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 1994; 11(2-3): 17-20.
3. Gök Ş. Adli Tıp Pratiği, İkinci Baskı. İstanbul: Filiz Kitabevi, 1984: 43-55.
4. Kamenev L, Leclercq M, Francois-Gerard C. Detection of p30 Antigen in Sexual Assault Case Material. J Forensic Sci Soc 1990; 30 : 193-200.
5. Davies A. The ABH Reactions of Seminal Stains. Forensic Sci Int 1988; 37: 105-55.
6. Baechtel FS. Secreted Blood Group Substances : Distribution in Semen and Stabilities in Dried Semen Stains. J Forensic Sci 1985; 30(4): 1119-29.
7. Chase MG. ABO Typing Studies on Liquid Urines. J Forensic Sci 1986; 31(3): 881-5.
8. Pereira M, Martin PD. Problems Involved in the Grouping of Saliva, Semen and Other Body Fluids. J Forensic Sci Soc 1976; 16: 151.
9. Sidhu SK, Garg RK. Examination of Relationship between Secretor Status and ABH Typing in Epidermal Cells. Adli Tıp Dergisi 1991; 7: 33-5.
10. Xingzhi X, Ji L, Hao F, Ming L, Zhuyao L. ABO Blood Grouping on Dental Tissue. J Forensic Sci 1993; 38(4): 956-60.
11. Darmady EM, Davenport SGT, editors. Hematological Technique, 2th ed. London: J and A Churchill Ltd, 1958: 191-212.
12. Fowler JSC, Scott AC. Examination of the Correlation of Groupings in Blood and Semen. J Forensic Sci 1985; 30(1): 103-13.
13. Williams JW, Beutler E, Erslev A, Lichtman MA, editors. Hematology, 3th ed. Singapore: Mc Graw-Hill Book Company, 1986: 1491-505.
14. Wintrobe MM. Clinical Hematology, 6th ed. Philadelphia: Lea and Febiger, 1967: 367-409.
15. Willot GM, Allard JE. Spermatozoa-Their Persistence after Sexual Intercourse. Forensic Sci Int 1982; 19: 135-54.
16. Awasthi R, Garg RK. ABH Typing on Formaldehyde Fixed Saliva Stains . Adli Tıp Dergisi 1991; 7: 13-7.
17. Kind SS. Absorbtion-Elution Grouping of Dried Blood Smears. Nature 1960; 185(6): 397-8.
18. Kind SS. Absorbtion-Elution Grouping of Dried Blood Stains on Fabrics. Nature 1960; 187(27): 789-90.
19. Mudd JL. The Detection of Soluble ABH Blood Group Substances in Semen and Saliva Using Monoclonal Blood Grouping Reagents. J Forensic Sci 1989; 34(5): 1082-9.
20. De Soyza K. Evaluation of An Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELIZA) Method for ABO and Lewis Typing of Body Fluids in Forensic Samples. Forensic Sci Int 1991; 52: 65-76.
21. Geanslen RE, Lee HC, Pagliaro EM, Bremser J K. Evaluation of Antisera for Blood Stain Grouping I. ABH, MN and Rh J Forensic Sci 1985; 30(3): 632-54.
22. Bolton S, Thorpe J. An Examination of a Contaminated Seminal Stain Using Absorbtion-Elution and ELIZA. J Forensic Sci 1988; 33(3): 797-800.
23. Yada S. Determination of the ABO Blood Groups of Blood Stains by Means of Elution Test. Jap J Legal Med 1962; 16(5): 290-4.
24. Gill P, Jeffreys AJ, Werrett DJ. Forensic Application of DNA Fingerprints. Nature 1985; 318(12): 577-9.
25. Iwasaki M , Kubo S, Ogata M, Nakasono I. A Demonstration of Spermatozoa on Vaginal Swabs after Complete Destruction of the Vaginal Cell Deposits. J Forensic Sci 1989; 34(3): 659-64.
26. Kirby LT. DNA Fingerprinting : An Introduction. New York: W H Freeman and Company, 1992: 51-71.
27. Frankel S, Reitman S. Clinical Laboratory Methods and Diagnosis. 6th ed. Saint Louis: The C.V. Mosby Company, 1963: 1516.
28. Garg RK, Sandhu PK. Detection of ABO(H) Blood Group Substances from Hair under Three Different Conditions. Adli Tıp Dergisi 1992; 8: 65-8.
29. Davies A , Lincoln PJ, Martin PD. Aberrant Group B Reactions Detected in Mixtures of Semen and Vaginal Secretions Possibly due to Acquired B. For Sci Int 1984; 25: 201-8.
30. Fiori A, De Mercurio D, Panari G, Burdi PR. The ABO(H) Paradoxical and Aberrant Secretions in Human Saliva. For Sci Int 1981; 17: 13-7.
31. Kashyap VK, Raju DVK, Bhatia RYP. Fungal Contaminations of Blood Stains and Their Secretory Substances. Adli Tıp Dergisi 1988; 4: 121-6.
32. Kind SS, Lang BG. An Investigation into the Possible Sources of Adventitious ABH Substances in Blood Stain Grouping. J of For Sci Soc 1976; 16: 155-61.

Yazışma Adresi:

Sema DEMİRÇİN-KARAGÖZ
 Altinkum mah. 100.Yıl Bulvarı 4712 sok.
 Ece Apt. D:5 ANTALYA
 Tel: 0-242-2291177
 Fax: 0-242-2375075