

ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

80132

**KAN LEKELERİNDEN ABSORBSİYON-İNİBİSYON  
VE ABSORBSİYON-ELÜSYON METOTLARI İLE  
YAPILAN ABO KAN GRUP TAYİNLERİNE ÇEVRESEL  
FAKTÖRLERİN ETKİSİ**

Adli Biyoloji Bilim Uzmanı H. Nihal AÇIKGÖZ

ADLİ TIP ENSTİTÜSÜ  
TIP BİLİMLERİ ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. İ. Özer KENDİ

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

1998-ANKARA

DOKTORA

TEZ SINAVI TUTANAĞI

~~YÜKSEK LİSANS~~

Öğrencinin Adı Soyadı : **H.Nihal AÇIKGÖZ**  
Enstitüye Kayıt No : **91715010**  
Anabilim Dalı : **Tıp Bilimleri Anabilim Dalı**  
Tez Konusu : **Ken Lekelerinden Absorbsiyon-inhibisyon ve Absorb  
siyon-Elüsyon Metodları ile Yapılan ABO Kan Grup  
Tayinlerine Çevresel Faktörlerin Etkisi.**  
Tez No :  
Sınav Tarihi : **10.03.1998**  
Sınav Başlama Saati : **16.00**  
Sınav Bitiş Saati : **17.15**

Karar :

Süresi içinde tamamlanan sınav sonucunda, yukarıda konusu ve numarası belirtilen tezin

- düzeltilmesine  
 kabulüne  
 reddine

oybirliği /oyçokluğu ile karar verilmiştir.

Gereke :

Jüri Başkanı

**Prof.Dr.Sahattin KORUCU**

Üye

**Prof.Dr.İbrahim TUNALI**

Üye

**Doç.Dr.A.Nezih KÖK**

Üye

**Doç.Dr.Özer KENDİ**

Üye

**Doç.Dr.i. Hamit HANCI**

Dinleyici Listesi ektedir.

## TEŞEKKÜR

Doktora öğrenimim ve tez çalışmalarım süresince bilgi ve deneyimlerinden büyük ölçüde yararlandığım Ankara Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü Tıp Bilimleri Anabilim Dalı ve Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Adli Tıp Anabilim Dalı Başkanı, danışman hocam Doç. Dr. İ. Özer Kendi'ye, Ankara Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü öğretim üyesi Prof. Dr. İbrahim Tunalı'ya, Yrd. Doç. Dr. H. Cahit Zentürk'e, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Adli Tıp Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Yaşar Bilge'ye saygı ve şükranlarımı sunarım.



**İÇİNDEKİLER**

<b>Kabul ve Onay</b>	<b>ii</b>
<b>Teşekkür</b>	<b>iii</b>
<b>İçindekiler</b>	<b>iv</b>
<b>Şekiller</b>	<b>v</b>
<b>Tablolar</b>	<b>vi</b>
<b>1.GİRİŞ</b>	<b>1</b>
1.1. Kan Grupları	2
1.1.1 ABO Kan Grup Sistemi	5
1.2. Kan Lekeleri	12
1.2.1. Kan Lekesi Şüphesinde Araştırılması Gereken Hususlar	14
1.2.1.1. Lekenin Kan Lekesi Olup Olmadığının Tespiti	15
1.2.1.2.İnsan ve Hayvan Kanı Ayırımı	27
1.2.1.3.Kan Vücudun Hangi Bölgesinden Gelmiştir?	33
1.2.1.4.Kan Lekesinin Kadına mı, Erkeğe mi Ait Olduğunun Tesbiti	35
1.2.1.5.Kan Lekesinin Yaşı.	36
1.2.1.6.Kan Lekesinden Grup Tayini.	37
1.2.1.7.Kan Lekelerinden Grup Tayininde Kullanılan Diğer Yöntemler	39
<b>2.AMAÇ</b>	<b>43</b>
<b>3.MATERYAL-METOT</b>	<b>44</b>
<b>4.BULGULAR</b>	<b>50</b>
<b>5.TARTIŞMA</b>	<b>61</b>
<b>6.SONUÇ</b>	<b>65</b>
<b>ÖZET</b>	<b>66</b>
<b>SUMMARY</b>	<b>67</b>
<b>KAYNAKLAR</b>	<b>68</b>

**ŞEKİLLER**

<b>Şekil 3.1.Absorbsiyon–inhibisyon metodunda kullanılan port–tüp şeması</b>	<b>46</b>
<b>Şekil 3.2.Absorbsiyon–elüsyon metodunda kullanılan port–tüp şeması</b>	<b>49</b>
<b>Grafik 4.1.Absorbsiyon–inhibisyon ve absorbsiyon–elüsyon metotları ile yapılan kan grup tayinlerinde iki yıl içinde alınan müsbet sonuçlar</b>	<b>57</b>
<b>Grafik 4.2.İki yıllık sürede çeşitli ortamlarda oluşturulan kan lekelerinden absorbsiyon–inhibisyon ve absorbsiyon–elüsyon metotları ile elde edilen doğru sonuçların karşılaştırılması</b>	<b>58</b>
<b>Grafik 4.3.Absorbsiyon–inhibisyon metoduyla iki yıl boyunca A, B, AB ve O gruplarından materyal ve günlere göre alınan doğru sonuçlar</b>	<b>59</b>
<b>Grafik 4.4. Absorbsiyon–elüsyon metoduyla iki yıl boyunca A, B, AB ve O gruplarından materyal ve günlere göre alınan doğru sonuçlar</b>	<b>60</b>
<b>Grafik 5.1. Absorbsiyon–inhibisyon ve absorbsiyon–elüsyon metotları ile yapılan kan grup tayinlerinde iki yıl içerisinde alınan müsbet sonuçların karşılaştırılması</b>	<b>63</b>

**TABLULAR**

<b>Tablo 1.1.Kan grup sistemleri</b>	<b>6</b>
<b>Tablo 1.2.Kan grup sistemleri antijenleri</b>	<b>7</b>
<b>Tablo 4.1.Absorbsiyon–inhibisyon metodu ile iki yıl sonuna kadar elde edilen bulgular</b>	<b>51</b>
<b>Tablo 4.2.Absorbsiyon–elüsyon metodu ile iki yıl sonuna kadar elde edilen bulgular</b>	<b>52</b>



## 1.GİRİŞ

Pek çok adli olayın çözümlenmesinde delil değeri olan lekeler, Adli Tıbbın ve Adli Tıp araştırmacılarının en önemli konularından biridir. Olay yerinde tespit edilen bir lekenin incelenmesinden, olayın içeriği hakkında bilgi sahibi olunabileceği gibi, olaydaki mağdur ve sanığın kimliklerinin teşhisinde de faydalanılabilmektedir. Adli Tıp açısından en önemli lekeler; kan, meni, tükürük, vajen ifrazı, mekonyum, süt ve süt ağzı, verniks kazeoza, idrar ve gaita lekeleridir. Adli olayların bir çoğunda olay yerinde kan lekeleri bulunduğundan, incelemeye gönderilen materyalin büyük bir kısmını da kan lekeleri oluşturmaktadır.

Herhangi bir cinayet veya yaralama olayında hem mağdurun hem sanığın vücut ve elbiselerinin çeşitli yerlerinde, hem de olay mahallinde kan lekelerine rastlanabilmektedir. Lekeler, bazı durumlarda şahısların tırnaklarının içinde, saçlarında, kulaklarının girintili yerlerinde ve özellikle giysilerinin iliklerinde, düğme arkalarında, pantolon, gömlek, ceket ve palto ceplerinin ağızlarında, pantolon paçalarında, elbiselerin ön yüzünde, olay yerinde, cinayet aleti üzerinde, yatak çarşafı, yastık, yastık kılıfı, perde, koltuklar, kapı ve pencerelerde, fayans, marley, parke, halı ve kilimde, cam eşya üzerinde, kireç, alçı, yağlı boya, briket, duvar, kiremit, taş, toprak, kum üzerinde ve trafik kazalarında taşıtların insana çarptığı kısımlarında (kapı, tampon, lastik üzerinde) ve yerde

(asfaltta, toprak zeminde) bulunabilir. Bir yerde tespit edilen kan lekeleri bir ya da birden fazla kişiye ait olabilir (Kirman ve Güven, 1953, s.:211, Özen ve Sözen, 1971, s.:226, Aykaç 1993 s.:212). Bu kan lekelerinden grup tayinleri yapılarak lekenin kime veya kimlere ait olduğu da tespit edilebilir (Öztürel, 1979, s.:333). Adli Tıp pratiğinde, çok değerli olan bu kan lekelerinin gruplarının tayininin önemi büyüktür.

### 1.1. Kan Grupları

İlk kan transfüzyonu, Romalılar döneminde ihtiyar Amchises'i gençleştirmek amacıyla bir gencin kanı verilerek denenmiştir. Eldeki daha güvenilir belgelere göre kanla ilgili ilk çalışmalar, William Harvey (1578-1657)' in 1616 yılında kan dolaşımını bugün bildiğimiz şekli ile açıklamasından sonra başlamıştır. Kan nakli düşüncesi, ilk kez 17. yüzyılda ortaya atılmıştır. 1615 yılında Andreas Libavius, insandan insana kan nakli yaptığını ileri sürmüştür. Johannes Colles da, yaşamı uzatmak amacı ile kan transfüzyonunun mümkün olduğunu söylemiştir. İngiltere'de Richard Lower tarafından 1665'te köpeklerden köpeklere kan nakli denenmiştir (Erskine, 1973, s.:3-10). Savaşlarda ve çeşitli yaralanmalar sonucu ortaya çıkan kan kaybı, hekimleri transfüzyon çalışmalarına yöneltmiştir. Koyun ve diğer bazı hayvanlardan alınan kanlar, insanlara verildiğinde sonucun kötü olması nedeniyle hayvandan insana transfüzyondan vazgeçilmiştir (Ekmen, 1965, s.:398). Insandan insana ilk



kan transfüzyonu, 1818'de James Blundell tarafından yapılmış, ancak hastası transfüzyondan 56 saat sonra ölmüştür. Bu çalışmalarına devam eden Blundell, 1829 yılında 20'den fazla hastasına kan transfüzyonu yapmış, fakat bunlardan sadece 4'ünde başarılı olabilmıştır. Provost ile Dumas 1821 yılında ve daha sonra Sir Thomas Smith, defibrine kan kullanmışlar, fakat başarılı olamamışlardır. Charles Waller, 1825-1826 yılları arasında transfüzyon çalışmaları yapmıştır. Higginson, 1857 yılında insandan insana kan transferinde toplu valfli kauçuk şırınga kullanarak 8 transfüzyon yaptığını ve bunların beşinde başarılı olduğunu bildirmiştir. J.H.Aveling, 1863 yılında insanda bir koldan diğer kola direkt kan transfüzyonunu keşfetmiştir. Bu yolla 7 transfüzyon yapmış ve vericinin damarından alıcının venine kanı hemen hemen değişmeden verdiğini ileri sürmüştür. Roussel, 1865 yılında bir koldan diğer kola kan transfüzyonunu bir hastanın tedavisi için kullanmış ve sadece insan kanı kullanmanın önemini vurgulamıştır. Branxton Hicks, 1869 yılında sodyum fosfat kullanmış ancak hastalarının tümü antikoagulant zehirlenmesinden ölmüştür (Erskine, 1973, s.:3-6). Landois, 1875 yılında bir hayvan türünün kırmızı hücrelerini diğer bir hayvan türünün serumu ile karıştırdığında kırmızı hücrelerin aglütine olduğunu farketmiştir. Landsteiner, 1900 yılında meslektaşlarının kanlarını alarak serum ve eritrositlerini ayırmış, karşılıklı olarak birbirleri ile karıştırdığında kırmızı hücrelerin diğerlerinin serumlarında aglütine olup olmadığına bakarak, insanlarda A, B ve O olmak üzere 3 tip kan grubu olduğunu göstermiştir (Mourant, 1954, s.:6, Kabat, 1956 s.:2-3, Fine, 1963, s.:21, Camps, 1968, s.:168,

Race ve Sanger, 1968, s.:1, Özen ve Sözen, 1971, s.:234, Büyükyüksel, 1974, s.:18, Albayrak, 1985, s.:1, Boorman, 1988, s.:2, Aykaç, 1993, s.:215). Landsteiner'in öğrencileri olan von Decastello ve Sturli, 1901 yılında 4. Grup olan AB'yi bulmuşlardır (Ekmen, 1965, s.:398). Bundan sonra ABO gruplarının transfüzyonu daha güvenle yapılmaya başlanmıştır. Ottenberg ve Epstein, 1908 yılında kan gruplarının kalıtımsal karakterde olduğunu ileri sürmüşler, ancak 1909 yılında Bateson "İnsandaki kendine has özellikler Mendeliyen kalıtımla geçer, ama bunun için yeterli kanıt yoktur" demiştir. Von Düngrn ve Hirszfild, 1910 yılında gruplarda Mendeliyen kalıtımının şüphe götürmediğini ortaya koymuşlar ve Mendel kanunları kan gruplarına uygulanmaya başlamıştır. Landsteiner ve Levine, 1927 yılında MN ve P kan grup sistemlerini, 1940 yılında da Landsteiner ve Wiener Rh kan grup sistemini ve onun eritroblastosis fötalis'teki asıl rollerini açıklamışlardır (Dujarric de la Rivière ve Eyquem, 1953, Race ve Sanger, 1968, s.:1-3, Marshall ve Bird, 1983, s.:18-21, Albayrak, 1985, s.:1, Boorman ve ark. 1988, s.:2). Göttingen'de Felix Bernstein adlı bir matematikçi, 1924 yılında A, B ve O kan gruplarının A, B ve O diye isimlendirilen 3 genden menşe almakta olduklarını söylemiştir (Çanga ve Önder, 1961, s.:217, Fine, 1963, s.:23-24).

İnsan alyuvarlarının yüzeylerinde, genetik olarak denetlenen, genellikle glikolipid ve glikoprotein yapısında olan, antijen-antikor reaksiyonlarına neden olabilen yüksek derecede antijenik yapıda en az 30 antijen bulunur. Bunlara ek olarak, 300'den fazla daha az etkili ya da yaygın olmayan

antijen bilinmektedir (Marshall ve Bird, 1983, s.:42, Guyton, 1986, s.:103, Giblett, 1987, s.:1483). Bunların 194 tanesi 22 kan grup sistemi içine yayılmışlardır. Kan grup sistemlerini oluşturan bu antijenler, kromozomların belirli lokuslarında yer almaktadırlar. ABO kan grubu sistemi 9., MNS kan grubu sistemi 4., Rh kan grubu sistemi 1. kromozomda yer almaktadır (Wintrobe ve ark. 1981, s.:458-464, Cartron, 1994, Chérif Zahar ve ark., 1994) Bununla ilgili tablo 1.1 aşağıda sunulmuştur (Anstee ve Mallinson, 1994).

Literatürde, Dombrock kan grubu sisteminin 1 numaralı kromozomda bulunduğu, ancak bu sistem geninin kromozomal lokusunun bilinmediği bildirilmektedir (Başaran, 1985, s.:288, Anstee ve Mallinson, 1994).

### **1.1.1 ABO Kan Grup Sistemi**

İnsan eritrositlerinin yüzeyinde bulunan kan grup antijenleri, fetal yaşamda gelişirler ve çok ender durumlar dışında ömür boyu değişmeden kalırlar (Marshall ve Bird, 1983, s.:42). Kuşaktan kuşağa Mendeliyen kalıtımla aktarılırlar ve serum proteinleri gibi polimorfizm gösterirler. Intra-uterin yaşamın 37. gününden itibaren görünmeye başlayıp, gelişimlerini sürdürerek 20. yaşta en kuvvetli duruma gelirler. Çocuk doğduğunda aglütinasyon kabiliyeti, yetişkinlerin 1/20'si kadardır. Yeni doğanın aglütininleri de yetişkinlere oranla 500 kat daha zayıftır ve isoaglütininleri kendisine ait olmayıp annesinden gelmiştir. Ancak 6 aydan itibaren bunların yerine kendi aglütininleri geçmeye başlar ve 10 yaşına kadar titresi yükselir (Ardalı, 1951, s.:2-4, Özen ve Sözen, 1971, s.:234, Büyükyüksel, 1974, s.:22-23, Özer, 1980 s.:566, Şaylı, 1982, s.:171, Albayrak, 1985, s.:28, Aykaç, 1993, s.:215).

Tablo 1.1.Kan Grup Sistemleri (Anstee ve Mallinson, 1994)

İsim	Buluş yılı	Sembolü	Sistem numarası	Sistem içindeki antijen sayısı	Gen ürünleri	Kan grup sistem genlerinin kromozomal lokasyonları
ABO	1901	ABO	001	4	Glikoziltransferaz	9q34
MNS	1926	MNS	002	37	Glikoforin A,B	4q28-q31
P	1926	P1	003	1	Glikoziltransferaz	22q11-qter
Rh	1939	Rh	004	47	CcEe&D Polipeptid	1p36-p34
Lutheran	1945	LU	005	18	Lutheran glikoprotein	19q12-q13
Kell	1946	KEL	006	21	Kel glikoprotein	7q33
Lewis	1946	LE	007	3	Glikoziltransferaz	19p
Duffy	1950	FY	008	6	Fy glikoprotein	1q22-q23
Kidd	1951	JK	009	3	Jk glikoprotein (urea transporter)	18q11-q12
Diego	1955	DI	010	2	Anion AE1 Transport protein (band3)	17q
Yt	1956	YT	011	2	Asetilkolinesteraz (AChE)	7q22
Xg	1962	XG	012	1	Xg <sup>a</sup> glikoprotein	Xp22.3
Scianna	1962	SC	013	3	Sc glikoprotein	1p34-p32
Dombrock	1965	DO	014	5	Do glikoprotein	1
Colton	1967	CO	015	3	Aquaporin-1 (CHIP)	7p14
Landsteiner Wiener	1940	LW	016	3	LW glikoprotein	19p13-p11
Chido/ Rogers	1967	CH/RG	017	9	Complement component 4 (C4)	6p21.3
Hh	1952	H	018	1	Glikoziltransferaz	19q
Kx	1975	XK	019	1	Kx glikoprotein	Xp21.1
Gerbich	1960	GE	020	7	Glikoforin C/D	2q14-q21
Cromer	1965	CROMER	021	10	CD55 (DAF)	1q32
Knops	1970	KN	022	5	CD35 (CR1)	1q32

Tablo 1.2.Kan Grup Sistemleri Antijenleri (Race ve Sanger, 1968)

SİSTEM	ANTİJENLER
ABO	A <sub>1</sub> , B, H, A <sub>2</sub> , A <sub>3</sub> , A <sub>4</sub> , A <sub>5</sub> , A <sub>6</sub> , A <sub>x</sub> , A <sub>m</sub> , A <sub>el</sub> .
MNSs	M, N, S, s, U, Mg, M <sub>1</sub> , M', Tm, Sj, Hu, He, Ml <sup>a</sup> , Vw (Gr), Mur, Hil, Hut, M <sup>v</sup> , Vr, Rl <sup>a</sup> , St <sup>a</sup> , Mt <sup>a</sup> , Cl <sup>a</sup> , Ny <sup>a</sup> , Sul, Far, M <sub>2</sub> , N <sub>2</sub> , M <sup>c</sup> , M <sup>a</sup> , N <sup>a</sup> , M <sup>r</sup> , M <sup>z</sup> , S <sub>2</sub>
P	P <sub>1</sub> , p <sup>k</sup> , Luke
Rh	D, C, c, C <sup>w</sup> , C <sup>x</sup> , E, e, e <sup>s</sup> (VS), E <sup>w</sup> , G, ce (f), ce <sup>s</sup> (V), Ce, CE, cE, D <sup>w</sup> , E <sup>T</sup> , Go <sup>a</sup> , hr <sup>a</sup> , hr <sup>H</sup> , hr <sup>B</sup> , R <sup>N</sup> , Rh33, Rh35, Be <sup>a</sup> , LW, D <sup>u</sup> , C <sup>u</sup> , E <sup>u</sup> ,
Lutheran	Lu <sup>a</sup> , Lu <sup>b</sup> , Lu <sup>a</sup> Lu <sup>b</sup> (Lu3), Lu6, Lu9, Lu4, Lu5, Lu7, Lu8, Lu10-17
Kell	K, k, Kp <sup>a</sup> , Kp <sup>b</sup> , Ku, Js <sup>a</sup> , Js <sup>b</sup> , Ul <sup>a</sup> , Wk <sup>a</sup> , K11, KL, K12-16
Lewis	Le <sup>a</sup> , Le <sup>b</sup> , Le <sup>c</sup> , Le <sup>d</sup> , Le <sup>x</sup>
Duffy	Fy <sup>a</sup> , Fy <sup>b</sup> , Fy <sup>3</sup> , Fy <sup>4</sup>
Kidd	Jk <sup>a</sup> , Jk <sup>b</sup> , Jk <sup>a</sup> Jk <sup>b</sup> , (Jk3)
Diego	Di <sup>a</sup> , Di <sup>b</sup>
Yt	Yt <sup>a</sup> , Yt <sup>b</sup>
Auberger	Au <sup>a</sup>
Dombrock	Do <sup>b</sup> , Do <sup>b</sup>
Colton	Co <sup>a</sup> , Co <sup>b</sup> , Co <sup>a</sup> Co <sup>b</sup>
Sid	Sd <sup>a</sup>
Scianna	Sc1, Sc2 (Bu <sup>a</sup> )
Çok sık görülen antijenler	Vel, Ge, Lan, Gy <sup>a</sup> , At <sup>a</sup> , En <sup>a</sup> , Wr <sup>b</sup> , Jr <sup>a</sup> , Kn <sup>a</sup> , El, Dp, Gn <sup>a</sup> , Ja <sup>a</sup> ,
Çok nadir görülen antijenler	An <sup>a</sup> , By, Bi, Bp <sup>a</sup> , Bx <sup>a</sup> , Chr <sup>a</sup> , Evans, Good, Gf, Heibel, Hey, Hov, Ht <sup>a</sup> , Je <sup>a</sup> , Jn <sup>a</sup> , Levay, Ls <sup>a</sup> , Mo <sup>a</sup> , Or, Pt <sup>a</sup> , Rl <sup>a</sup> , Rd, Re <sup>a</sup> , Sw <sup>a</sup> , To <sup>a</sup> , Tr <sup>a</sup> , Ts, Wb, Wr <sup>a</sup> , Wu, Zd,
Diğer Antijenler	I, I, Bg (hL-A), Chido, Cs <sup>a</sup> , Yk <sup>a</sup> ,
Xg	Xg <sup>a</sup>

A, B ve O kan gruplarını ayırt ettiren maddeler glikoproteinlerdir. Bunların antijenik özellik taşımayan öncü maddelerine H geni,  $\alpha$ -L-fucoziltransferaz aracılığıyla L-

fucos maddesini bağlar ve antijenik özelliğe sahip H maddesini oluşturur. Bu ana yapı her üç grupta da aynıdır. Sadece molekülün son ucunda bulunan şeker molekülü farklıdır. Gruplara özgü transferaz enzimleri tarafından bağlanan şeker molekülleri, A grubu kanda N-asetil-D-galaktozamin, B grubunda ise D-galaktozdur. Bu enzimlerden her ikisini birden taşımayan şahısların kanları O grubudur. Her iki enzimi de taşıyan şahısların kanları ise AB grubudur (Wiener ve Karowe, 1965, s.:155, Wintrobe, 1981, s.:455, Albayrak, 1985, s.:6-7, Başaran, 1985, s.:187-188, Boormann ve ark., 1988, s.:75-78, Noyan, 1990).

ABO sistemi, 9 no'lu kromozomun uzun kolunda lokalizedir ve kromozom çiftlerindeki alel genlerden her biri A-B-O kan gruplarını belirler. Bunlar arasında dominantlık söz konusu değildir. Bununla birlikte O geni hemen hemen hiç veya hiç fonksiyon yapmaz; yani hücrelerde O aglütinojeni yoktur ya da o kadar zayıftır ki, normal olarak anlamsız kalır (Guyton, 1986, s.:104, Giblett, 1987, s.:1483). Transferaz enzimi üretmediği için O grubu kişilerde H antijenik yapıları değişmeden kalır. Aynı şekilde h geni de antijenik özellik üretmez. Öte yandan, A tipi ve B tipi genler, hücrede güçlü aglütinojen oluşumuna yol açar. Böylece karşılıklı iki kromozomdaki genlerden biri A tipi ise, eritrositler A aglütinojenini, eğer iki genden biri B tipiye, eritrositler B aglütinojenini, veya kromozomun birinde A tipi diğerinde B tipi varsa, eritrositler hem A hem de B aglütinojenini taşırlar (Şaylı, 1982, s.:175).

Tablo 1.3.ABO Kan Grup Sistemi

Genotip	Fenotip	Eritrosit Yüzeyindeki Antijen	Plazmada Bulunan Antikorlar
AO/AA	A	A	Anti-B
BO/BB	B	B	Anti-A
AB	AB	AB	Yok
OO	O	H	Anti-A ve Anti-B

Tablo 1.3'te belirtildiği gibi AO, AA, BO, BB, AB, OO şeklinde 6 gen kombinasyonu bulunmaktadır. Bu farklı gen kombinasyonlarına genotip denir ve her kişi bu altı farklı genotipten birine sahiptir (Şaylı, 1982, s.:170, Albayrak, 1985, s.:3, Başaran, 1985, s.:183, Guyton, 1986, s.:104, Aykaç, 1993, s.:216, Başaran, 1996, s.:339). O geni (OO genotipi), hiç aglütinojen üretmediğinden kan grubu O'dır (Camps, 1968, s.:168, Özen ve Sözen, 1971, s.:235, Wintrobe, 1981, s.:454).

Eritrositlerdeki A aglütinojeni farklı antijenik karakterler göstermektedir. A kan grubunun A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub>, A<sub>4</sub>, A<sub>5</sub>, A<sub>6</sub>, A<sub>x</sub>, A<sub>m</sub>, A<sub>el</sub> gibi subgrupları vardır. Lösemili bazı hastalarda A antijeni kaybolabilir (Marshall ve Bird, 1983, s.:43).

İntestinal malinite ve ağır sepsisten şikayetçi olan kişilerin eritrositlerinde, B geni taşımamalarına rağmen B'ye benzer antijenik özellik oluştuğu görülmüştür. Bu nedenle ABO gruplamasına ek olarak, serum gruplandırması da yapıp bu uyumsuz durum ortaya çıkartılabilir (Ardalı, 1951, s.:11, Marshall ve Bird, 1983, s.:43, Albayrak, 1985, s.:12).

O grubu kanlarda A ve B antijenleri olmamakla birlikte, eritrositlerde H veya O substansı adı verilen bir antijen mevcuttur. Bu substansa, O eritrositleri ile birlikte diğer grupların eritrositlerinde de rastlanır. H substansı, en yüksek miktarda O kan grubunda, gittikçe azalan miktarlarda da A<sub>2</sub>, A<sub>2</sub>B, B, A<sub>1</sub>, AB gruplarında bulunur.

Anti-H aglütinineri A<sub>1</sub>B, A<sub>1</sub>, ve B kan grubunu taşıyan şahısların serumunda bulunabilir. İnkomplet antikor olarak da bütün gruplarda rastlanmaktadır. Bu antikorlar öküz, keçi, kedi, köpek, koyun ve tavşan gibi hayvanların kanlarında yılan balığında (*Anguilla anguilla*, *Anguilla japonica*) ve bazı bitkilerin tohum ekstrelerinde de (*Ulex europaeus*: katır tırnağında) tespit edilmiştir (Kabat, 1956, s.:10, Ekmen, 1965, s.:400-402, Özen ve Sözen, 1971, s.:237, Knight, 1977, s.:814, Başaran, 1985, s.:186, Boorman ve ark., 1988, s.:44).

Tüm kan grubu genlerinde olduğu gibi, H (O) geni de kromozomlarda allelik genler halinde bulunur. Bu durumda kişi, homozigot HH veya heterozigot Hh genotipine sahip olabilir. Nadiren genotipi homozigot hh olanlarda, yani H geni bulunmayan kişilerde, H antijeni üretilmeyeceği için glikoproteine bir fukoz eklenemez. H maddesi, A ve B antijenlerinin ara ön maddesi olduğundan, bu kişilerde A ve B genleri olmasına rağmen A ve B antijenleri oluşamaz. Bu fenotipe O (h) veya Bombay kan grubu denir. Bu kan grubu O kan grubuna benzememektedir. Bombay fenotipinin serumlarında Anti-A, Anti-B, Anti-H antikorlarının bulunması sebebiyle O grubu eritrositlerini de aglütine ederler



(Büyükyüksel, 1974, s.:20, Albayrak, 1985, s.:4-5, Başaran, 1985, s.:185-186, Boorman ve ark., 1988, s.:64-65, Başaran, 1996, s.:340, Kaneko ve ark., 1997).

ABO sistem antijenleri, eritrositlerin yüzeylelerinden başka, lökositlerde, trombositlerde, spermde, kaslarda, midede, bağırsakta, pankreasta, dalakta, böbrekte, böbrek üstü bezinde, aortta, kalpte, akciğerde, plasentada, karaciğerde, prostatta, tiroide, hipofizde, tükürükte, kolostrumda, deride ve hatta kistik hücrelerde de bulunmaktadır. Ayrıca over kisti sıvılarında da ABO sistem antijenlerine rastlandığı bildirilmiştir. Eritrosit antijenlerini, yani A maddesini A<sub>1</sub> ve A<sub>2</sub>, B maddesini B, AB maddesini AB ve H maddesini O grubundan kişiler salgılayabilirler. Sekresyon ve ekskresyonlarında solubl glikoprotein şeklinde antijenik özellik taşıyan kişilere sekretuar denir (Kabat, 1956, s.:13, Büyükyüksel, 1974, s.:22, Şaylı, 1982, s.:181, Başaran, 1985, s.:188, Giblett, 1987, s.:1483, Boorman ve ark., 1988, s.:48, Aykaç, 1993, s.:219, Başaran, 1996, s.:342).

Sekretuarlık özelliği, sigara izmaritindeki, zarf, pul ve mendildeki tükürük lekelerinden, göz yaşından, mide öz suyundan, vajen ifrazatından, çamaşırlarda veya çarşafalarda tespit edilebilecek spermde, vücudun çeşitli bölgelerinden akmış ve etrafa bulaşmış kan lekelerinden grup tayini yapılmasına olanak sağladığı için Adli Tıp açısından çok önemlidir (Özen ve Sözen, 1971, s.:238).

## 1.2. Kan Lekeleri

Kan lekeleri, bir müessir fiil esnasında vücutta açılan bir yaradan akan kan ile meydana gelebileceği gibi, bir müessir fiile bağlı olmadan da ağız, burun, kulaklar, vajen, penis ucu ve anüs gibi deliklerden akmak suretiyle de meydana gelebilir.

Kan lekeleri, taze iken parlak kırmızıdır ve kumaşın her lifi kuru pıhtı ile çevrilmiş olup, küçük pıhtı parçaları kurumuş jel gibi olmuş ve giysi ya da kumaşın lekeli kısmının liflerinin arasına girmiştir. Güneş ışığında pıhtılar koyu kırmızı, değişken ışıkta (lamba ışığında) ise parlak, yarı şeffaf, koyu kırmızıya çalan bir renkte görünürler. Reçel ve meyva suyu lekeleri ile demirden yapılmış eşya (silahlar, bıçaklar vb.) üzerindeki pas lekeleri de, benzer görünüm verebilirler (Kirman ve Güven, 1953, s.:212). Lekeler, koyu renkli veya siyah giysi ya da kumaş üzerinde bulunduğu görülmezler, ancak leke kan lekesi ise sertleşmiştir ve yansıyan ışıkta kurumuş pıhtı nedeniyle parlak görülebilir (Smith ve Simpson, 1956, s.:342). Kan içinde bulunan albüminlerin pıhtılaşması nedeniyle, ince kumaşlarda hafif bir sertlik oluşur (Özen ve Sözen, 1971, s.:227). Leke eskimiş ise koyu kırmızı, esmer, siyahımtırak bir renkte görülür. Açıkta kalmış bir kan lekesi, 8-10 saat içinde hemoglobinin hematine dönüşmesi nedeniyle esmerleşir (Aykaç, 1993, s.:212). Lekenin rengi, yaşına, miktarına ve üzerinde bulunduğu materyalin cinsine bağlı olmakla birlikte, sadece rengine bakarak lekenin yaşını söylemek

pek mümkün değildir. Eğer lekenin bulunduğu materyal beyaz renkli ise, fiziksel inceleme için elverişlidir, ancak mavi, siyah, kahverengi gibi koyu renkli bir materyal üzerinde ise ve kurumuşsa, laboratuvar incelemesi olmadan pek fazla fikir vermez. İpek kumaşlar lekeyi tamamen emerken, yn kumaşlar lekeyi pek fazla emmezler. Kokuşma halinde ise leke, balık pulları gibi kabarık, parlak ve yer yer yarıklı bir şekil arzeder. Canlıdan akan kan yıkansa bile, bulaştığı yerden kolay kolay çıkmaz, ancak l kanı yıkandığında çabuk temizlenir (zen ve Szen, 1971, s.:227). Kan lekelerinin görünüşü, şekli, boyutu ve etrafındaki eşyalarla olan ilişkisi, olayın oluşu hakkında son derece önemli fikirler verebilir (Smith ve Simpson, 1956, s.:342). Müessir fiillerde kanın fışkırma veya damlama suretiyle akma şekline, düştükleri yüzeyin niteliğine, açısına, kanın akma yönüne göre biçimleri farklıdır. Dikey olarak herhangi bir yere düşen kan damlası yuvarlak şekillidir. Damlanın düşme mesafesine göre leke etrafında girintili çıkıntılı ve küçük küçük damlacıklar oluşur. Düşme yüzeyinin eğikliği ne kadar fazla ise, leke o oranda ovalleşir. Meydana gelen leke şekilleri de olayın aydınlatılması bakımından önemlidir (Smith ve Simpson, 1956, s.:342, zen ve Szen, 1971, s.:227, ztrel, 1979, s.:326-328, Tunalı, 1988, s.:35, Aykaç, 1993, s.:212).

Laboratuvarda yapılacak incelemeler için, leke taşınabilir bir eşya üzerinde ise, olay yerinden eşyanın tümü alınarak, eğer leke tazeliğini koruyorsa ve miktar olarak fazla ise bir pipet kullanılarak temiz bir tüp veya şişe içine konulur. Eğer leke eski, birikmiş, kurumuş durumda ise ağız

kısmına el değmemiş bir bıçak veya spatül ile kazınarak bir petri kutusuna aktarılır. Leke sıvanma tarzında, kazınarak alınamayacak bir durumda ise, bir pens ile steril olarak alınan pamuk, serum fizyolojik ile ıslatıldıktan sonra leke üzerine bastırarak sürtülmek suretiyle lekenin pamuğa geçmesi sağlanır. Eğer leke toprak, alçı, cilasız tahta, halı, tüylü kumaşla kaplı koltuk ve benzeri taşınmaz ve emme özelliğine sahip eşya üzerinde ise lekenin en yoğun olduğu bölge kesilerek veya kazınarak alınabilir. Alınan leke veya lekelerin alındığı yer, o günün tarihi ve ne amaçla alındığı mutlaka kaydedilmelidir. Leke, grup tayini yapılamayacak kadar küçük veya az ise, üzerine serum fizyolojik, %10'luk potasyum siyanid, %10'luk gliserin veya zayıf amonyak solüsyonlarından biri damlatılmış bir süzgeç kağıdına emdirilerek elde edilen ekstraksiyonla (Taylor usulü) sadece kan olup olmadığı araştırılabilir (Kamay, 1951, s.:57, Camps, 1968, s.:189, Özen ve Sözen, 1971, s.:228, Tunalı, 1988, s.:34, Aykaç, 1993, s.:212).

### **1.2.1. Kan Lekesi Şüphesinde Araştırılması Gereken Hususlar**

- 1)Leke kan lekesi midir?
- 2)Leke kan lekesi ise cinsi nedir? (İnsan kanı hayvan kanı ayırımı)
- 3)Leke insan kanı ise vücudun neresinden gelmiştir? (Burun, adet kanı, yara, çocuk düşürme, mideden gelme v.s.)
- 4)Kan lekesinin kadına mı, erkeğe mi ait olduğunun tespiti,
- 5)Kan lekesinin yaşı.

## 6)Kan lekесinin grubu

### 1.2.1.1. Lekenin Kan Lekesi Olup Olmadığının Tespiti

Eskimiş kan lekeleri bazen pas lekesi, bazen kırmızı renkteki meyva suları ve bazen de kırmızı mürekkep lekeleri ile karışabileceğinden, alınan bir leke üzerinde ilk yapılacak işlem, lekenin kan lekesi olup olmadığının tesbitidir. Bunun için de ihtimali reaktifler ile kan olup olmadığı hakkında bir fikir sahibi olunduktan sonra, kati reaktifler ile sonuca gidilir.

Ihtimali reaktifler, olay mahallinde leke yerinden alınmadan da uygulanabilir. Çok eski olmayan lekelerin üzerine serum fizyolojikle ıslatılmış süzgeç kağıdı tatbik edilerek incelemek mümkün ise de, pratikteki değeri pek fazla değildir. Çünkü eskimiş lekeler kolay kolay süzgeç kağıdına geçmezler. Ancak kırmızılığını koruyan bir lekenin süzgeç kağıdına geçirilerek ihtimali reaktiflerin uygulanmasından bir sonuç alınamıyorsa, lekenin kan lekesi olmadığı veya yapılacak ileri tetkiklerden yarar beklenemeyeceği düşünülür. Oldukça eski izlenimi veren lekeler üzerinde % 3'lük hidrojen peroksit tatbiki genellikle iyi sonuç vermekle beraber, hidrojen peroksit'in yapılacak ileri incelemelerin hassasiyetini yok etmesi nedeniyle, leke miktarının az olması hallerinde bu işlemde vazgeçilmesi gerekir. Çok eski olduğu görünümü veren lekelerde, içerisinde sadece hematin teşekkül etmiş eski lekelerle reaksiyon veren ve terkibi; 0,1 g 3-aminofital asit-hidrazit, 5

g sodyum karbonat, 15 ml % 30'luk hidrojen peroksit, 100 ml distile su olan reaktiften karanlık bir yerde leke üzerine damlatılır veya spreyleneir. Eğer leke kan lekesi ise sarı mavimtrak bir refle verir. Taze lekelerde henüz hematin teşekkül etmediğinden, bu reaktiften sonuç alınamaz. Bu sözü edilen iki metot da olay yerinde kullanılacak metotlardan olup, menfi sonuç alındığında araştırma materyali alınmasına gerek kalmaz (Tunalı, 1988, s.:35,36).

Laboratuvarda ise Adler reaktifi, Lokomalaşit reaktifi, Mayer reaktifi, Orthotolidine test, Luminal test, Van Dean reaktifi gibi ihtimali reaktifler ile pozitif sonuç alındığında ve elde yeterli miktarda leke varsa kati reaktiflere geçilir. Bunlar da, Hemin billurlarının oluşturulması, Hemokromojen kristallerinin teşekkül ettirilmesi, Bromhidrat hematin billurlarının oluşturulması, kan lekesinin spektroskopik, mikrospektroskopik muayenesi, kromodensasyon testi, kromatografi testi ve elektroforez metodudur (Kirman ve Güven, 1953, s.:221, Smith ve Fiddes, 1955, s.:208, Camps, 1968, s.:190, Özen ve Sözen, 1971, s.:228, Öztürel, 1979, s.:329, Tunalı, 1988, s.:36-39).

#### **a)İhtimali Reaktifler**

Bu reaktiflerin esası, leke içindeki peroksidaz enzim aktivitesinin gösterilmesine dayanır (Aykaç, 1993, s.:212, Salaçin, 1994). İhtimali reaktif olarak seçilen testler, kan lekesinin düşük konsantrasyonlarında hassas, kullanımı kolay, güvenilir olmalı ve hızlı sonuç vermelidir (Cox, 1991).

Bu reaktiflerin en büyük sakıncası, kan lekelerinde insan kanı lekesi olup olmadığının tespitinde kullanılan serolojik testlerin ve ABO kan grubu testlerinin reaksiyon verme özelliklerini inhibe etmesidir (Tokiwa, 1986). Örneğin, Lökomaşıit yeşili ile kontamine olmuş kan lekelerinde, DNA düzeyinde kimliklendirme yapılmasının mümkün olmadığı bildirilmektedir (Salaçin, 1994).

**1.Adler (Benzidin) Reaktif:** Bu reaktif iki şekilde hazırlanabilir;

a) 95°'lik alkolde doymuş Benzidin eriyiği, reaksiyonu kolaylaştırmak için hidrojen peroksitle beraber kullanılır. Leke kan lekesi ise mavi renk verir (Öztürel, 1979, s.:329).

b) 1 g Benzidinin 10 cc % 50'lik Glasiyal asetik asit içerisinde çözülmesi ile elde edilen bu reaktifin tatbiki için ayrıca % 20 volümlük hidrojen peroksitle ihtiyaç vardır. Hazırlanırken reaktifin içine 30 cc % 3'lük hidrojen peroksit eklenebilir. Ancak Hidrojen peroksitte meydana gelen değişiklik nedeniyle reaktif çabuk bozulduğundan ayrı ayrı kullanılması daha uygun olmaktadır (Tunalı, 1988, s.:36,37).

Adler reaktifinin uygulanabilmesi için, öncelikle lekenin maserasyona tabi tutulması gerekir. Maserasyon için lekeli materyalden bir miktar alınıp, ufak parçalara kesilerek bir tüpe konulur, üzerine lekenin miktarı göz önüne alınarak bir miktar serum fizyolojik damlatılır. Lekenin üzerinde bulunduğu materyalden serum fizyolojiğe geçmesi için bir

süre beklenerek maserasyon sağlanır. Maserasyon süresi lekenin eskiliğine bağlıdır. Bir haftaya kadar olan lekeler 3-4 saat içinde serum fizyolojiğe geçer. Daha eski lekelerin eskilik derecelerine göre daha uzun süre bekletilmesi gerekir. Eğer araştırmada acil bir durum söz konusu ise, eski lekelerin üzerine birkaç damla KOH (potasyumhidroksit) damlatılarak lekenin serum fizyolojiğe daha çabuk geçmesi sağlanır. Birkaç damla gibi az bir miktar KOH Adler reaktifinin terkiibini bozmaz. Elde edilen maserat süzgeç kağıdına damlatılarak kullanılır.

Adler reaktifinin uygulanışı iki şekilde olabilir: Birinci şekilde beyaz bir süzgeç kağıdı üzerine birkaç damla reaktiften ve hidrojen peroksitten damlatıldıktan sonra, bu kağıt leke üzerine tatbik edilir veya süzgeç kağıdı üzerine lekeden damlatılarak reaktif ve hidrojen peroksit ilave edilir. İkinci şekilde ise lekeli maserattan bir tüpün içerisine birkaç damla damlatılıp üzerine bir iki damla reaktif ve hidrojen peroksit ilave edilir. Reaktif damlatıldıktan hemen sonra yeşil, 10 dakika sonra mavi bir rengin meydana gelmesi lekenin kan lekesi olduğunu düşündürür. Ancak buradaki en önemli nokta hidrojen peroksidi damlatmadan önce bir müddet beklemek gerektiğidir. Eğer bu arada mavi renk oluşursa bu test değersiz kabul edilir. Çünkü mavi rengin oluşumu, ortamda oksitleyici madde bulunduğunu gösterir, ama leke, kan lekesi değildir. Kontrol amacı ile lekесiz kısımdan alınan bir parça da aynı işleme tabi tutulmalıdır (Smith ve Simpson, 1956, s.:342-345). Cox (1991)'un 1/10.000'lik dilüsyonda 1 saniyede, 1/1.000.000'luk dilüsyonda 20 saniyede pozitif reaksiyon verdiğini bildirdiği



bu reaktif, literatüre göre 1/500.000 oranında hassastır. Benzidin reaktifi, potasyum ferrosiyanit, potasyum kromat, lugol eriyiği, tenturdiyod, bikromat, hipoklorit, formalin, sodyum tiosülfat, kurşun süperoksit, aseton, magnezyum klorit, demir oksit, demir klorit, potasyum permanganat, domates, erik, şeftali, salatalık, elma, soğan, sarımsak, armut, karpuz suları ile, kuru fasülye, yeşil ve kırmızı mercimek, buğday, arpa unları ve deterjan, sinek pisliği, feçes gibi oksitleyici maddelerle de müspet sonuç vermektedir (Martin, 1950, s.:121, Kamay, 1951, s.:57, Simonin, 1955, s.:846, Simpson, 1961, s.:41, Piédelièvre ve Fournier, 1963, s.:354-355, Camps, 1968, s.:190, Tunalı, 1988, s.:36, Cox, 1991, Aykaç, 1993, s.:213). Benzidin testi, yıllardan beri adli tıp laboratuvarlarında lekenin kan lekesi olup olmadığının araştırılmasında büyük bir güvenle kullanılmıştır. Ancak günümüzde, bu reaktifin kanserojenik özellikleri olması nedeniyle bazı ülkelerde yasaklanmıştır (Knight, 1977, s.:810, Cox, 1991, Salaçin, 1994, Knight, 1997, s.:39). Bu kanserojenik özelliği nedeniyle kullanılmayan benzidin testinin yerine geçecek bir test araştırılmış ve tetrametilbenzidin kullanılmaya başlanmıştır (Cox, 1991).

**2. Loko-Malaşit Reaktifi:** Reaktif, Adler reaktifinde olduğu gibi uygulanır. Leke, kan lekesi ise, bir dakika içinde mavi-yeşil renk meydana gelir ve bu renk 10 dakika sonra yeşil renge dönüşür. Bu reaktif, potasyum kromat, lugol mahlülü, tenturdiyot, potasyum permanganat, bikarbonat, demir sülfat, kurşun süperoksit, aseton, aliminyum sülfat,

sülyen boya, bronş ifrazı, kiraz suyu ile müspet sonuç verir. Reaktifin hassaslığı konusunda yapılan çalışmalarda Grodsky ve ark. 1/100.000 olarak bildirmişse de Cox (1991) bu oranı 1/5.000 olarak göstermiştir (Kirman ve Güven, 1953, s.:223, Smith ve Fiddes, 1955, s.:208, Camps, 1968, s.:190, Tunalı, 1988, s.:37, Cox, 1991).

**3.Mayer Reaktifi:** Bir saat camı veya tüp içine konulmuş bir kaç damla leke solüsyonunun üzerine, önce bir iki damla reaktif, sonra da aynı miktarda hidrojen peroksit damlatıldığında, bir kaç saniye içinde açık kırmızı-pembe renk meydana gelirse, sonuç müspet olarak kabul edilir (Öztürel, 1979, s.:328,329, Tunalı, 1988, s.:36-38). Ancak, hidrojen peroksit damlatılmadan önce, kırmızı rengin meydana gelmediği teyit edilmelidir. Hidrojen peroksit damlatılmadan önce kırmızı rengin ortaya çıkması, ortamda oksitleyici maddelerin bulunduğunu gösterir. Bu durumda leke, kan lekisi değildir (Smith ve Simpson, 1956, s.:345). Bu testin 1/1.000.000 oranında hassas olduğu bilinmektedir. Cox (1991) da yaptığı çalışmalarda bu testin, 1/1.000.000 dilüsyondaki kan solüsyonu ve kanın 1/10.000'lik dilüsyonuyla lekelenmiş filtre kağıdı ile koton kumaşta, pozitif sonuç elde ettiğini bildirmiştir.

Mayer reaktifi, bakır, albümin, idrar, meni lekesi, bazı taze meyve suları ile müspet sonuç verebilir. Kendi ve arkadaşları (1995) tarafından pregallol ve gümüşnitratın kanla karıştığında reaktifin reaksiyon verme kabiliyetini

ortadan kaldırdığı bildirilmiştir. Ayrıca bu reaktif pas lekesi ile de negatif sonuç verir. (Martin, 1950, s.:121, Kamay, 1951, s.:56, Simonin, 1955, s.:846,847, Smith ve Fiddes, 1955, s.:208, Simpson 1961, s.:41, Camps, 1968, s.:190-191, Özen ve Sözen, 1971, s.:229-230, Knight, 1977, s.:810, Aykaç, 1993, s.:213).

**4.Orthotolidin Test:** Orthotolidinin, etanol içindeki %4'lük solüsyonu hazırlanarak stok solüsyon elde edilir. Bu solüsyon, +4°C'de saklandığında bir ay bozulmadan kalabilir. Bu süre içinde solüsyonda bir miktar dibe çökme görülse dahi, bu onun etkinliğini azaltmaz.

Çalışma solüsyonu, eşit miktarda stok solüsyon ile glasiyal asetik asit ve distile sudan ibarettir.

**Testin yapılışı:** Bu test iki şekilde uygulanır. Eşit miktarda çalışma solüsyonu ve hidrojen peroksit karıştırılarak ya tüpteki leke ekstratının, ya da süzgeç kağıdına emdirilen leke ekstratının üstüne damlatılır. Yeşil veya mavi rengin meydana gelmesi, pozitif sonuç olarak yorumlanır (Camps, 1968, s.:190). Cox (1991), bu testte süzgeç kağıdı, koton kumaş ve dilüe kan solüsyonunun 1/100.000'lik dilüsyonunda pozitif sonuçlar elde etmiştir.

**5.Luminal Test:** Test solüsyonu bir yere asılmış veya yayılmış olan lekeli giysi veya kumaşın üzerine karanlık

odada atomizer ile spreyleneir. Parlak bir görünümün ortaya çıkması, kuvvetle lekenin kan lekesi olduğunu gösterir. Bu testin bir sakıncası, atomizerle spreylenen 300-500 µl hacimdeki test solüsyonunun geniş bir alana yayılması ve ilerideki incelemeleri engellemesidir (Camps, 1968, s.:191). Ancak Laux (1991), test solüsyonu spreylenen lekeli giysi veya kumaşın yaklaşık 30 dakika içinde oda ısısında kurduğunu ve bu sürenin sonunda ileriki incelemelere geçilebileceğini bildirmiştir.

**6.Van Dean Reaktifi:** 95°'lik alkolde 100 g Gayyak (Gaic) reçinesi eritilip lekeye tatbik edildiğinde, leke kan lekesi ise mavi bir renk verir. Reaksiyonu kolaylaştırmak için terebentin kullanılır. Reaksiyonun hassasiyeti 1/20.000'dir. Bu reaktif tükürük, süt, ter, patates, un, demir sülfat, bakır sülfat, potasyum permanganatla pozitif sonuç verir. İdrar, meni, vajen ifrazı, domates suyu, tentürdiyot, demir, demir klorür, bakır, pas lekesi ile menfi sonuç verir (Martin, 1950, s.:120, Kamay, 1951, s.:57, Kirman ve Güven, 1953, s.:220,221, Smith ve Simpson, 1956, s.:345, Öztürel, 1979, s.:329).

#### **b) Kat'i Reaktifler**

İhtimali reaktiflerle müspet sonuç alındığı ve elde yeterli miktarda materyal bulunduğu kesin sonuç veren kati reaktiflere geçilir.

Bunlar hemin billurlarının oluşturulması, hemokromojen billurlarının oluşturulması, Heller'in florans deneyi, lekenin spektroskopik muayenesi, pas lekesi ile kan lekesinin ayırımında kullanılan metotlardır.

**1)Hemin Billurlarının Oluşturulması:** Hemin billurları; Teichmann metodu, Wagennar deneyi, Gabriel Bertrand, Stryzowski reaktifleri ile oluşturulmaktadır.

**Teichmann-Hemin Billurlarının Oluşturulması:** Eğer leke kazınma tarzında alınmış bir leke ise, kazıntıdan toplu iğne başı büyüklüğünde bir parça, lam üzerine konur, maserasyona tabi tutulmuş bir leke ise, maserasyon mayiinden bir iki damla lama damlatılıp kurutulur. Bu leke üzerine bir lamel kapatılır ve lamelin kenarından bir damla glasiyal asetik asit ile bir damla %1'lik sodyum klorür çözeltisi damlatılıp, kaynatmadan çok hafif bir alev üzerinde tutularak, glasiyel asetik asitle sodyum klorür çözeltisi uçurulur. İyice soğuduktan sonra bu işlem bir kaç defa daha tekrar edilir. Mikroskopta incelendiğinde kahverengi saman çöpü şeklinde görülen billurlar, reaktifin müspet sonuç verdiğini, lekenin kan lekesi olduğunu gösterir. Bu billurlara Hemin billurları denir (Martin, 1950, s.:122-124, Kamay, 1951, s.:58-59, Simonin, 1955, s.:847, Smith ve Fiddes, 1955, s.:212, Smith ve Simpson, 1956, s.:349, Piédelièvre ve Fournier, 1963, s.:355-356, Tunalı, 1988, s.:38, Aykaç, 1993, s.:213).

**Wagennar Deneyi:** 1930 yılında Wagennar tarafından bulunmuştur. Bu deneyle Asetonklorheminin billurları teşekkül ettirilir. Kırmızı renk farkedilebilecek kadar dilüe leke solüsyonları bile, müspet sonuç alınması için yeterlidir.

Leke kan lekesi ise mikroskobun orta büyütmesinde Teichmann heminin billurlarını andıran daha küçük kristaller görülür.

**Gabriel Bertrand Reaktifi:** Bu reaktif çok hassas olup kaynatılmış veya pas ile karışmış, çok eski ve miktarı 0,0005 mg gibi çok az olan kan lekeleriyle bile kesin sonuç verir.

Mikroskopta heminin billurlarına benzeyen, renkleri sarı-kahverengi arası olan rhomboit şekilli billurlar görülür. Bu billurlara, klor hidrat de heminin billurları denir. Bu billurların görülmesi, lekenin kan lekesi olduğunu gösterir (Özen ve Sözen, 1971, s.:231, Aykaç, 1993, s.:213,214).

**Stryzowski Reaktifi:** Bu reaktif ile mikroskopta 20 mikron uzunlukta koyu kahverengi bir takım kristaller görüldüğünde, lekenin kan lekesi olduğu gösterilmiş olur. Romboid şekilli bu kristallere hematin iyothidrat kristalleri denir (Kamay, 1951, s.:60, Kirman ve Güven, 1953, s.:228, Piédelièvre ve Fournier, 1963, s.:356,357, Aykaç, 1993, s.:214).

## **2) Hemokromojen Kristallerinin Oluşturulması:**

Hemokromojen kristalleri, eski, ısıtılmış, kokuşmuş kan ile de oluşabilmektedir. Şekilleri dikdörtgen, iğne gibi veya iğ biçimindedir (Smith ve Fiddes, 1955, s.:208).

Eğer leke kazınma tarzında alınmış bir leke ise, kazıntıdan toplu iğne başı büyüklüğünde bir parça lam üzerine konur, maserasyona tabi tutulmuş bir lekeyse, maserasyon mayiinden bir iki damla lama damlatılıp kurutulur, üzerine birkaç damla iyotlu eriyik, bir damla piridin, birkaç damla hidrosülfid konulduğunda leke kan lekesi ise, hemokromojen kristalleri oluşur (Öztürel, 1979, s.:330, Tunalı, 1988, s.:38).

Hemokromojen kristalleri Takayama, Oustinov, Sarda-Derrien reaktifleri ile de oluşturulabilmektedir.

**Takayama Reaktifi:** Maserasyona tabi tutulmuş lekeden, bir lam üzerine bir damla damlatılıp lamel kapatılır. Lamelin kenarından reaktif sızdırılır ve reaktif ile lekenin birleştiği yerde önce sarı, sonra kırmızı renge dönüşen bir renk değişikliği ortaya çıkar. Ardından mikroskopta hemokromojen kristalleri oluşur. Kristaller, bir saat süre ile aynı şekilde gözlenir, daha sonra erimeye başlar ve azalırlar. Bu reaktif, koyu renkli bir şişede 3-4 hafta bozulmadan muhafaza edilebilir (Simonin, 1955, s.:848, Smith ve Simpson, 1956, s.:350, Simpson, 1961, s.:43, Camps, 1968, s.:191, Özen ve Sözen, 1971, s.:231, Öztürel, 1979, s.:330, Tunalı, 1988, s.:38-39, Aykaç, 1993, s.:214).

**Oustinov Reaktifi:** Daha çok kazınma tarzında alınan lekelerde kullanılır. Kazınma tarzında alınan kan lekesinden bir parça, lam üzerine konur ve bir iki damla reaktif damlatılarak lamel kapatılır. Çok hafif bir alevden geçirilip, ısıtılarak kurutulur. Mikroskopta incelendiğinde, kırmızı esmer renkte hemokromogen kristalleri görülür (Özen ve Sözen, 1971, s.230).

**Sarda-Derrien Reaktifi:** Bulan kişilerin adları ile anılır. Oustinov gibi uygulanır.

**Heller'in Florans Deneyi:** Bu metot, 1916 yılında Heller tarafından bulunmuştur. Leke materyali dilüsyon şeklinde ise, bir lam üzerine bir iki damla damlatılır. Eğer kazınma tarzında alınmış ise, bir lam üzerine bir parça konulur ve bu leke materyaline bir iki damla konsantre sülfürik asit ilave edilir. Leke kan lekesi ise, kan lekesinin içinde bulunan hematoporfirin parçalanarak porfirin açığa çıkar. Açığa çıkan bu porfirin, mikroskopta incelendiğinde, oldukça yoğun bir florans ve parlak bir görünüm gözlenir.

Bu metot, 1955 yılında Datzaner ve Kednig tarafından modifiye edilmiştir. Lekenin üzerine Tiyoglikol asit ilave etmişler ve hematoporfirin içindeki demiri parçalayarak ortaya çıkan porfirin ile aynı floransı elde etmişlerdir.

**3) Lekenin Spektroskopik Muayenesi:** Bu tetkikten sonuç alınabilmesi için, en azından narçiçeği görünümünü almış leke solüsyonu gereklidir. Daha açık renkli bir solüsyonla sonuç alınamaz. Şeffaf bir kap içine konulan leke



solüsyonu, spektroskopla incelendiğinde leke eğer kan lekesi değilse, spektroskopla görülen renkler arasında hiçbir değişiklik olmaz. Kan lekesinde ise, spektroskoptaki sarıyla yeşil rengin birleştiği yerde, D ve E bandları arasında, soldaki sağdakine göre hafif genişçe yukarıdan aşağıya uzanan absorpsiyon bandı adı verilen iki siyah çizgi görülür (Martin, 1950, s.:125,126, Kamay, 1951, s.:60, Piédelièvre ve Fournier, 1963, s.:357, Özen ve Sözen, 1971, s.:231, Öztürel, 1979, s.:330, Tunalı, 1988, s.:39, Aykaç, 1993, s.:214).

**4)Pas Lekesi ile Kan Lekesinin Ayırımı:** Pas lekesi suda erimez, süzgeç kağıdı ıslatılıp lekeye sürüldüğünde, pas lekesi kağıda çıkmaz. Buna, Taylor izi negatiftir denir. Pas lekesi KOH'ta erimez, HCl'de erir. % 65 Potasyum Ferrosiyandır ile Prusya mavisi rengindeki çöküntü, pas lekesi ile oluşur. Bu çöküntü, okzalik asitte erir. Pas lekesi, tanenle siyah renk verir. Mayer reaksiyonu pas ile negatif, Adler reaktifi ise, pozitif sonuç verir (Öztürel, 1979, s.:330,331).

#### **1.2.1.2.İnsan ve Hayvan Kanı Ayırımı**

Lekenin kan lekesi olduğuna karar verildiğinde, grup tayinine geçmeden önce insan kanı olup olmadığının araştırılması gerekir. Takayasu ve arkadaşları (1988) şempanzeler üzerinde yaptıkları araştırmada insan A<sub>1</sub> antijeni ile şempanzelerdeki A antijeninin aynı serolojik

özelliğe sahip olduğunu göstermişlerdir. Bunun için de sitolojik metotlar (kan boyama preparatlarının hazırlanması, lökosit sayılması) ve immünolojik metotlar (presipitan serum-tüp tekniği, kapiller test, agar-gel diffüzyon testi ve antiglobülin human test) uygulanır (Tunalı, 1988, s.:39).

#### **a)Sitolojik metotlar.**

Kuşların ve balıkların alyuvarlarının çekirdekli olduğu, insan ve memeli hayvan alyuvarlarının ise, çekirdeksiz oldukları pek eskiden beri bilinmektedir. Taze lekelerden hazırlanan preparatlar, kan boyama metotları ile boyandığında alyuvarların çekirdeksiz oldukları tespit edilirse, insan kanı lekesi olduğu düşünülebilir. Ayrıca lökosit formülü yapılarak sonuç doğrulanabilir (Simpson, 1961, s.:41, Piédelièvre ve Fournier, 1963, s.:361, Tunalı, 1988, s.:39, Aykaç, 1993, s.:214).

#### **b)İmmünolojik Metotlar**

Bunlar presipitasyon ve aglütinasyon esasına dayanan testlerdir.

##### **1)Presipitasyon Esasına Dayanan Testler:**

**Presipitasyon:** Basitçe, suda erimiş antijenlerin, elektrolitli ortamda kendi immunoglobulinleri (antikorları) ile birleşmeleriyle önce bulanıklık, sonra bir çökme olayı

şeklinde sonuçlanan reaksiyona presipitasyon denir. Önceleri tüpte iki sıvının belli miktarlarda karıştırılması ile uygulanan ve pek kısıtlı kullanma alanı bulunan, mikrobiyolojinin değerli bir serolojik testi olan presipitasyon, hergün yeni tekniklerin ortaya konması ile gittikçe genişleyen bir uygulama alanı bulmuş ve Adli Tıbbın da önemli testleri arasına girmiştir (Tunalı, 1988, s.:39, Bilgehan, 1989, s.:380).

Presipitasyon için presipitan seruma ihtiyaç vardır. Tavşanların karın derisi altına, peritona veya kulak venine 20 gün boyunca 3-4 gün aralıklarla, her defasında 3-4 ml olmak üzere, steril insan veya hayvan serumu enjekte edilir. Tavşanların 1/3'ünün kanında, enjekte edilen seruma karşı antikor oluşur. Tavşanlar son enjeksiyondan sonra 24 saat aç bırakılarak kanları alınır ve serumları titre edilerek presipitan serum elde edilir (Kamay, 1951, s.:69, Simonin, 1955, s.:850,851, Piédelièvre ve Fournier, 1963, s.:359, Tunalı, 1988, s.:40).

### **Presipitasyonun Çeşitli Uygulama Alanları:**

**Halka Deneyi:** Basit olarak bir bağışık serumda, belli bir antijene karşı antikor olup olmadığını ya da bir sıvıda belli bir antikora karşı antijen olup olmadığını, kalitatif olarak anlamak mümkündür. Bu metot, bazı besin maddelerinde bulunan yabancı proteinlerin (sucuklarda uygunsuz etlerin), bazı kuşku lu lekelerin insan ya da hayvan kanı olup olmadığını anlaşılması gibi konularda

uygulanabilmektedir (Unat, 1985, s.:274, Bilgehan, 1989, s.:380, Matsuzawa, 1993).

**Tüp Tekniği:** Adli tıp pratiğinde presipitasyon için, daha ziyade tüp tekniği kullanılmaktadır. Presipitan serumla kan lekesinin, insan kanı olup olmadığının araştırılması, kan serumu içindeki proteinlere istinad eder (Tunalı, 1988, s.:40,41).

**Huber'in Modifiye Presipitasyon Testi:** Bir lam üzerine, yan yana bir damla anti human presipitan serum, bir damla da araştırılacak olan kan lekesi ekstraktından damlatılıp, lamel kapatılır. Mikroskopta incelendiğinde iki zon arasında beyaz çizgi şeklinde bir reaksiyon gözlenir. Normal mikroskopta görmek her zaman mümkün olmadığından, incelemenin karanlık saha mikroskobuyla yapılması, bu bandı açıkça görmeyi sağlar.

**Kapiller test:** Bu test, tüp testinin yüz defa küçültülmüş şeklidir. Çok az miktardaki lekeler üzerine uygulanabildiği gibi, serum tasarrufunda da bulunulmuş olur. Bir ml antiserumla 10-15 inceleme yapılabilir. (Unat, 1985, s.:274-275, Tunalı, 1988, s.:41,42).

**Agar-Gel Diffüzyon Testi:** Bu test, santrifüj yoluyla iyice berraklaştırılmayan kan lekeleri için tercih edilen bir metottur. Ayrıca reaksiyonun uzun müddet devam etmesi ve

saklanabilmesi gibi avantajları da vardır (Tunalı, 1988, s.:42).

## **2)Aglütinasyon Esasına Dayanan Testler**

**Aglütinasyon:** Antikorların, birden fazla antijenik hücre ile, antijenik hücrelerin de, birden fazla antikorla birleşmesi sebebiyle eritrositlerin biraraya toplanmasına aglütinasyon denir. Biraraya toplanan bu eritrositler gözle, büyüteçle veya mikroskopla görülebilir. Aglütinasyon olayının gerçekleşebilmesi için, antijeni taşıyan hücrelerin elektrolitli ortamda (serum fizyolojikte) süspansiyon halinde bulunmaları gerekir (Bilgehan, 1989, s.:386).

Coombs testi, Anti-human globulin testi, Pasif hemaglütinasyon testi, Leke içinde anti-art aglütininlerin varlığı esasına dayanan metotlar bu testlerden bazılarıdır.

**Coombs Testi:** Bu test, 1949 yılında Wiener tarafından geliştirilerek Adli Tıp alanında insan kanı ile hayvan kanı ayırımı için kullanılmaya başlanmıştır. Coombs serumu, eritrositlerin etrafını kaplayan inkomplet Rh antiserumunun ortaya çıkarılmasında kullanılır. Inkomplet Rh antiserumu ile kaplanıp aglütinasyon vermeyen eritrositlerin üzerine bir damla anti-human globulin serum (Coombs serumu) damlatıldığında, anti globulin molekülleri hassaslaştırılmış olan eritrositleri aglütine ederler (Bilgehan, 1989, s.:429).

**Anti-Human Globulin Test:** Jungwirth, 1956'da anti human globulin serum ile insan proteinlerinin biraraya gelmesi sonucunda Coombs serumunun nötralize olması, yani aktivitesini tamamen kaybetmesi özelliğinden yararlanarak bu metodu geliştirmiştir.

Bu testin tercih nedeni, bulanık ekstraktların temizlenmesine gerek kalmaması, tüp testinden kolay, çabuk ve onun kadar hassas olmasıdır (Tunalı, 1988, s.:42).

**Pasif Hemaglütinasyon Testi:** Eritrositler, tanen ile muamele edilir ve globulin içeren insan serumundaki proteinle bağlanma kabiliyeti kazandırılır. Bu globuline bağlanma özelliği kazanan eritrositlerden bir tüpe bir damla konur ve üzerine anti human globulin serum eklenir. Aglütinasyon meydana gelmiş ise, leke insan kanı lekesidir (Camps, 1968, s.:196).

**Leke İçinde Anti-Art Aglütininin Varlığı Esasına Dayanan Metot:** Bu metot Marx, Ehren ve Roorh tarafından bulunmuştur. Araştırılan kan lekesinin % 0,6'lık serum fizyolojik ile oldukça konsantre bir solusyonu hazırlanır. Bundan lama bir damla damlatılır. Parmak ucundan direkt olarak alınan kandan bir damla ilave edilir, aglütinasyon meydana gelmiş ise, leke insan kanı lekesi değildir. Çünkü bu aglütinasyonun oluşumuna neden olan anti-art aglütinin, bir çok hayvanın serumunda da bulunmaktadır (Prokop, 1960, s.:387).

### 1.2.1.3.Kan Vücudun Hangi Bölgesinden Gelmiştir?

Kan ağız, burun, akciğerden, mide, döl yatağı, vajenden gelmiş olabileceği gibi, herhangi bir yaralanmada o yaradan da gelebilir. Ancak kanın nereden geldiğini kesin olarak her zaman tespit etmek mümkün olmayabilir.

Burun kanamasında, solunum yolundan gelen kanda, bu bölgenin titrek tüylü epitel hücreleri bulunur.

Kadın genital kanamalarının tümünde vajen epitel hücreleri bulunduğundan, önce lekenin kadın genital kanama lekesi olup olmadığının tespiti gerekir. Bunun için, leke kumaşa ise, lifler çekilerek, sert bir zemin üzerinde ise, kazınarak alınan parçalar lam üzerine yerleştirilir. Lifler üzerine bir damla serum fizyolojik damlatılarak iyice didiklenir. Leke parçası kazınarak alınmış ise, lama hafifçe yayılarak üzerine lamel kapatılır. Lamelin kenarından lügol eriyiği (2 g iyot, 3 g potasyum iyodür, 45 ml distile su) damlatılır. Preparatlardaki vajen epitel hücrelerinin protoplazmalarında kahverengi glikojen vakuelleri görülür. Bu hücrelerin çekirdekleri glikojen içermediğinden, protoplazma içinde bir kabarcık görüntüsü verir.

Sonra bu lekenin mensturasyon kanamasına mı, deflorasyona mı, yoksa çocuk düşürmeye ait bir leke mi olduğu araştırılır.

Mensturasyon kanı lekesinde, eritrositler parçalanmıştır ve bol miktarda bakteri içerir (Tunalı, 1988,

s.:48-49). Uterus içini kaplayan hücreler, bazen de vajende bulunan trichomonas vaginalis görülebilir, fibrinolizin bulunur ve Ph derecesi düşüktür (Camps, 1968, s.:210, Özen ve Sözen, 1971, s.:233, Öztürel, 1979, s.:332, Tunalı, 1988, s.:49).

Deflorasyon kanamasında ise, eritrositler sağlamdır, fibrin içerir (Tunalı, 1988, s.:49). Kızlık zarının yassı epitel hücreleri görülür, bazen sperm bulunabilir. Irza geçme olaylarında vulvadan gelen kanda, vulvaya ait çekirdeksiz keratinize hücreler görülür (Öztürel, 1979, s.:332).

Mensturasyon kanaması ile deflorasyon kanamasını ayırmak için, fibrinolizin ve fibrini kimyasal yöntemlerle tesbit etmek zaman aldığından, hazırlanacak preparatların pappenheim ile boyanarak psödo-decidual hücrelerin aranması daha pratiktir (Tunalı, 1988, s.:49).

Çocuk düşürme ve doğum kanında placenta parçaları (Öztürel, 1979, s.:332), lekelerden hazırlanan preparatlarda korion villusları, korion hücreleri, verniks hücreleri, ayva tüyleri ve mekonyum parçacıkları görülür (Tunalı, 1988, s.:49).

Mide ve bağırsak kanamaları siyah-kahverengidir (Özen ve Sözen, 1971, s.:233).



#### 1.2.1.4. Kan Lekesinin Kadına mı, Erkeğe mi Ait Olduğunun Tesbiti

Kadın kanında, periferik nötrofil lökositlerin çekirdek segmentlerine asılı, trampet çomağı şeklinde drumstic cisimcikleri bulunur. Kan lekeleri içerisindeki nötrofil lökositler, henüz hemolize olmamışsa periferik kan yayma preparatları hazırlanır ve Giemsa ile boyanır. Bu yayma preparatlarda %5 dolayında görülen drumstic cisimciklerinin tespiti ile, kanın kadına ait olduğu söylenebilir. Bunun erkeklerde bulunmaması ayırıcı bir özelliktir (Camps, 1968, s.:206, Başaran, 1985, s.:242, Tunalı, 1988, s.:48).

Sex kromatinler, insanı da içine alan memeliler grubundaki yalnızca dişilerin interfaz dönemi hücre nükleuslarında görülen, inaktive olmuş ve yoğunlaşmış olan X kromozomunun oluşturduğu, çekirdek zarına yapışık durumda bulunan özel bir kromatindir. X kromatin ya da Barr cisimciği diye de adlandırılır. 0,7-1,4 mikron büyüklüğünde, genellikle çekirdek içine bakan yüzü, dış bükey görünümündedir. Bütün çekirdek boyaları ile koyu boyanabilme özelliğindedir. Kadınlarda bir adet X kromatini bulunur, normalde erkeklerde bulunmaz. X kromatin en yüksek oranda (%95) amniyotik zarlarda bulunmakla beraber, en kolay buccal epitelde görülür (Özen ve Sözen, 1971, s.:233, 234, 239, 242, Knight, 1977, s.:812, Başaran, 1985, s.:470, Nagamori, 1986, Başaran, 1996, s.:429). Cinsiyetin tespit edileceği durumlarda hem X, hem de Y kromatin tayininin mutlaka yapılması gerektiği bildirilmektedir (Sakamoto ve ark., 1988). DNA polimorfizmi

kullanılarak Y kromozomunun adli incelemelerde ve babalık testlerinde kullanılıyor olması, kromozomun babadan oğula değişmeden geçmesi prensibine dayanır (Jobling, 1997).

#### **1.2.1.5.Kan Lekesinin Yaşı.**

Yeni lekeler kırmızı renktedir. Kan lekesi içindeki hemoglobinin oksidasyonu sonucu, methemoglobinin ortaya çıkması ile eskiyen lekelerin renginin kırmızıdan kahverengiye döndüğü uzun zamandır bilinmektedir (Andrasko, 1997). Kan lekelerinin yaşı, değişik solüsyonlarda çözünürlüğüne göre, standart yaşı bilinen lekelerin renkleriyle karşılaştırılarak veya yapay yaşlandırma metodu ile anlaşılmaya çalışılır. Kan lekesinin yaşını tayin etmek oldukça zordur. Lekenin ve çevrenin değişik özelliklerinin, lekenin rengine etki ettiği düşünülünce, renk karşılaştırması ile lekenin yaşını tayine çalışmanın pek doğru olmadığı kabul edilebilir.

Kumaş üzerindeki kan lekelerinin yaşının tayininde en iyi sonuçlar, Weining metodu ile alınmıştır. Bu test, kan lekesindeki klorid iyonlarının etraftaki lekesiz liflere yayılması esasına dayanır. Leke, tam ortadan kesilerek ikiye ayrılır. Parçalardan biri, içinde 5-6 damla konsantre nitrik asit bulunan ‰ 1'lik gümüş nitrat solüsyonunda üç dakika bekletilir. ‰ 1'lik nitrik asit çözeltisiyle üç kez yıkandıktan sonra, saf su ile çalkalanır. Daha sonra bir kısım ‰ 35'lik formalin ve dokuz kısım ‰ 2'lik NaOH'den oluşan solüsyonda tespit edilerek kurutulur. Daha önce ayrılan leke

parçası ile, işleme tabi tutulmuş olan parça yan yana getirilerek boyutlarında genişleme olup olmadığı, çevreye yayılıp yayılmadığı kontrol edilir. Eğer lekenin civarında bariz bir klorid halkası göze çarparsa lekenin en az iki haftalık olduğu kabul edilir. Genişleme 2-3 ayda 1 mm'yi, 5 ayda 2 mm'yi, 9 ayda 3 mm'yi bulur (Ponsold, 1967, s.:473, 496).

Çok eski lekeler, potasyum hidroksitle karıştırılarak spektroskopla incelendiğinde, hemokromojen çizgileri görülür. 6 aydan eski lekeler suda erimez veya çok güç erirler. 6 ay ile 1 senelik lekeler % 3'lük potasyum hidroksitte erir.

Leke eriyiği, kağıt üzerine elektroforezle alınarak standart lekelerle kontrol edilir. Bu metotla kan lekesinin yaşı tayin edilebildiği gibi, insan veya hayvan kanı olup olmadığı da ayrılabilir (Elektroforez testi) (Öztürel, 1979, s.:331-333).

Bunlar haricinde literatürde, yüksek performans sıvı kromatografi (HPLC) yöntemi ile 60 güne kadar kan lekesinden yaş tayini yapılabileceği bildirilmektedir (Andrasko, 1997).

#### **1.2.1.6.Kan Lekesinden Grup Tayini.**

İnsan kanı lekesi olduğu tespit edildikten sonra suç delili olarak değerlendirilecek olan bu lekelerde en önemli

araştırma, grup tayinidir. Lekeden A, B, AB ve O grupları tayini yapılabilir ve klasik olarak şu metotlar kullanılmaktadır:

**1)Schiff-Holzer Aglütinin Bağlama Testi:** Bu testin esası, anti-A serumunun, A grubundan bir leke ile, anti-B serumunun, B grubundan bir leke ile, anti-AB serumunun da AB grubundan bir leke ile bir arada kaldıklarında aglütinasyon meydana getirme kabiliyetlerinin zayıflamasına dayanır. Bu testin uygulanması için 3-4 mg'lık kan lekesi yeterlidir.

Pratikte tatminkâr ve çok emin olması sebebiyle önce bu test uygulanır. Alınan sonuç aglütinin esasına dayanan Lattes testi ile teyit edildiğinde, direkt grup tayini kadar güvenilirdir (Simonin, 1955, s.:858, Prokop, 1960, s.:389, 390, Ponsold, 1967, s.:485, Tunalı, 1988, s.:43-45).

**2)Siracusa'nın Absorbsiyon-Elüsyon Metodu:** Bu metodun esası, kan lekesi tarafından absorbe edilerek bağlanan antiserumların daha sonra ayrılarak eritrositleri aglütine etmesidir (Ponsold, 1967, s.:486, Tunalı, 1988, s.:45).

**3)Nickolls ve Pereira'nın Hücre Karışımı Aglütinasyon Metodu:** Bu metot absorbsiyon-elüsyon metodunun mikroskopik şeklidir. Çabuk sonuç alınması,

ayrıca klasik absorpsiyon metodunun gerektirdiği inceleme materyalinin 1/1000 miktarıyla yapılabilmesi tercih nedenidir. Bu metotta cam ve cilalı eşya üzerindeki lekeler, serum fizyolojik ile hafif ıslatılmış pamuğa geçirilerek incelenebilir (Camps, 1968, s.:204, Özen ve Sözen, 1971, s.:245-246, Tunalı, 1988, s.:46, Ötker, 1994).

**4)Lattes metodu:** Bu metodun esası da, leke içerisinde bulunan serumun üzerine ilave olunan % 2 lik eritrosit süspansiyonundaki hücreleri aglütine etmesidir. Bu metodun tatbiki için en elverişli lekeler cam, camdan yapılmış eşya, porselen ve cilalı eşya üzerindeki lekelerdir. Çünkü emme özelliği olan yüzeylerde kan lekесinin serum kısmı bu yüzey tarafından emilir (Tunalı, 1988, s.:47).

#### **1.2.1.7.Kan Lekelerinden Grup Tayininde Kullanılan Diğer Yöntemler**

Yukarıda bahsedilen klasik yöntemler dışında kan, meni, tükürük gibi vücut sıvılarından, dişten, kemikten ve dokudan kan grup ve subgruplarının tayinlerinde başka yöntemler de kullanılabilir.

Adli Serolojide, eritrosit antijenlerinin, antijenik özelliklerinin DNA analizleriyle gösterilmeye başlandığı günümüzde, eritrosit antijenlerinin aglütinasyon reaksiyonları ile gösterilmesi, basitliği ve ucuzluğu nedeniyle önemini korumaktadır. Antijenlerin, aglütinasyon

reaksiyonları ile gösterilmesinde oldukça değişik teknikler geliştirilmiştir (Altun ve ark., 1994).

Çok küçük miktarlardaki materyallerin ayırımına olanak sağlayan yöntemlere mikrometotlar denmektedir. Jel test (Phast Gel) yöntemi de bunlardan biridir. ABO grup tiplendirmesinin yanı sıra, bazı zayıf antijenik özellikte olan kan gruplarının (k, jk<sup>a</sup>, jk<sup>b</sup>, Fy<sup>a</sup>, Fy<sup>b</sup>, Le<sup>a</sup>, Le<sup>b</sup>, Kp<sup>a</sup>, Kp<sup>b</sup>, Lu<sup>a</sup>, Lu<sup>b</sup>, S, s, M, N, P<sub>1</sub> gibi) jel test ile ayırt edilebildiği bildirilmektedir (Altun ve ark., 1994).

Kan gruplarının saptanmasında mikroplate yöntemi, diğer aglütinasyon yöntemlerine göre daha az hücre ve serumla daha hassas sonuçlar vermesi, ekonomik olması ve daha az zaman alması nedeniyle tercih edilmektedir (Mudd, 1986, Mudd ve Adams, 1990, Kellece ve ark., 1994).

Kimura ve Matsuzawa (1991), absorpsiyon-elüsyon ve planimetrik lateks aglütinasyon metodları ile çok küçük kan lekelerinden Lewis kan grubunu, Lee ve arkadaşları (1988), 2 boyutlu absorpsiyon-elüsyon testi ile kan, tükürük, idrar, idrar lekesi ve ter lekelerinden ABH kan grup antijenlerini göstermişlerdir. Lötterle ve arkadaşları (1986), absorpsiyon-elüsyon tekniği ile çok küçük miktardaki kan lekelerinin incelenmesini sağlayan bir mikro metod geliştirmişler ve bu mikro metotla A ve B antijenlerinin tayini için koton kumaştan 1 mm uzunluğunda iki lif, Rh antijenlerinin tayini için ise 2,5 mm uzunluğunda iki lifin yeterli olduğunu bildirmişlerdir. Moriya ve Nonikawa (1989), kan lekelerinden MN kan grubunun tayini için elektroforez ve immunoblotting

yöntemiyle çalışmışlar ve bir aydan daha eski lekelerde MN fenotiplerinin tayininin kolay olmadığını bildirmişlerdir. Thomsen ve Adamzik (1990), immünokimyasal yöntem ile kan lekelerinden ABH ve MN antijenlerinin tayininin başarı ile yapıldığını göstermişlerdir. Ötker ve arkadaşları (1994), mixed aglütinasyon yöntemini kullanarak dillüe kan lekelerinden ABO antijenlerini tespit etmişlerdir.

Fletcher ve Stephens (1987), Elisa testi ile kan ve vücut sıvılarının (meni, tükürük, vajen ifrazı) lekelerinden anti-A ve anti-B antikorlarını, Tunalı ve arkadaşları (1994), absorpsiyon-inhibisyon tekniğini kullanarak buzdolabı, oda sıcaklığı ve etüv şartlarının tükürük lekelerinden grup tayinine etkilerini, Pflug ve arkadaşları (1989), Dot-blot-Elisa tekniğini kullanarak nitrocellülos membranda vücut sekresyon sıvısı (tükürük ve tükürük lekeleri, meni, vajinal sekresyon, ter, idrar) lekelerinden ABO ile Lewis antijenlerini tespit ettiklerini ve bu metodun en önemli özelliklerinden birinin çok az leke materyali ile çalışılabilmesi olduğunu bildirmişlerdir. Kimura ve arkadaşları (1993), Sandwich Elisa yöntemi ile kan lekelerinden ABO kan grup antijenlerini, Tokiwa (1986), absorpsiyon-elüsyon ve mixed aglütinasyon testlerini kombine olarak kullanarak az miktarda ki kan lekelerinden ABO kan grup tayini, Mayr (1988), kan lekelerinden HLA antijenlerini, Lee ve arkadaşları (1991), iki boyutlu absorpsiyon-inhibisyon testi ile vücut sıvılarından ABH antijenlerini, Mackenzie ve arkadaşları (1989), immunofluoresans ve immunohistokimyasal yöntemlerle ağız mukozası ve dişetlerinden kan gurubu tesbiti yapmışlar,

Crainic ve arkadaşları (1989), absorpsiyon-elüsyon, mixed aglütinasyon ve histo-immuno flouresans metotlarını kullanarak Roma döneminden kalan 14 mumyanın doku, kemik ve saç örneklerinde ABO antijenlerini göstermişlerdir. Wegener ve Bulnheim (1990), immuno alkalın fosfataz tekniğini kullanarak tırnaklardan ABO antijenlerini, Sharma ve Chattopadhyay (1993), elektroforez, Işık ve Tunalı (1994), absorpsiyon-elüsyon yöntemi ile diş pulpalarından ABO kan grup antijenlerini tesbit etmişlerdir. Wynbrand ve Chisum (1971), saç kılından absorpsiyon-elüsyon metodu ile ABO kan grubu tayini yapmışlar ve olumlu sonuçlar elde etmişler.





## 2.AMAÇ

Kan lekelerinden grup tayininde yaygın olarak absorpsiyon–inhibisyon ve çok daha az leke materyali ile sonuç alınabilen absorpsiyon–elüsyon metotları kullanılmaktadır. Ancak literatürde inceleme için gönderilen kan lekelerinde grup tayinine etkili olabilecek süre ve lekenin bulunduğu ortamın rolü hakkında geniş bir çalışmaya rastlanmadığından bu metotlarla, lekenin yeni veya eski oluşunun ve bulunduğu ortamın grup tayini üzerine etkisinin, hassasiyet ve süre bakımından metodlar arasında bir farklılık bulunup bulunmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

### 3.MATERYAL-METOT

Grup tayini yapılırken kullanılan materyaller:

- 1.Grubu bilinen kan lekeleri,
- 2.Anti-A serumu,
- 3.Anti-B serumu,
- 4.Anti-H serumu,
- 5.Deney tüpleri,
- 6.48 adet Schiff tüpü,
- 7.Port-tüpler,
- 8.Pastör pipetleri,
- 9.Lam ve lameller,
- 10.Nemli kamara,
- 11.Santrifüj cihazı,
- 12.Su banyosu,
- 13.Termometre,
- 14.Bek,
- 15.A ve B grubu taze kanlar,
- 16.Serum fizyolojik,
- 17.Bagetler.

Bu çalışmada, Ankara Kızılay Kan Merkezinden alınan grupları belli taze kanlar, laboratuvarımızda yeniden grup tayini yapılarak grupları teyit edilmiştir. Daha sonra bu kanlar kumaş, halı, duvar kağıdı, fayans, briket, tuğla, bahçe toprağı, kireçli toprak, gübreli toprak, yeşil yaprak ve ağaç gövdesine dökülmek veya sürülmek suretiyle birbirleri

ile temas etmeyecek şekilde ve mümkün olduğu kadar geniş lekeler oluşturularak grupları ve günün tarihi kaydedilmiştir.

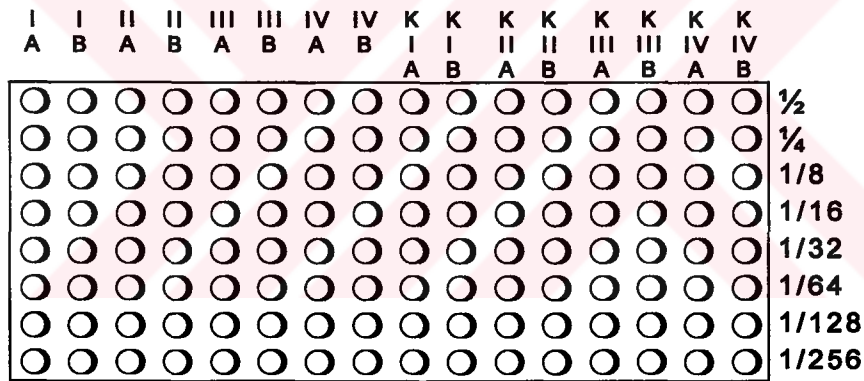
Kumaş, halı, duvar kağıdı, fayans, briket, tuğla, üzerindeki lekeler, laboratuvar şartlarında muhafaza edilmiş ve bir gün sonra bu lekelerden serum fizyolojikle ıslatılmış pamuklar lekeye sürtülerek pamuğa bulaşan lekelerden grup tayinleri yapılmıştır.

Ağaç üzerindeki lekeler Ana Bilim Dalımızın bahçesindeki ağaçlara sürülmek ve dökülmek suretiyle oluşturulmuş aynı şekilde pamuğa aktarılan lekelerden grup tayinleri yapılmıştır. Topraktaki lekeler de yine Ana Bilim Dalımızın bahçesinin bir bölümüne dökülerek oluşturulmuş ve buralardan alınan materyal, üzerlerinde grupları yazılı tüplere konularak, her bir tüpe birer damla serum fizyolojik eklenmiş ve topraktaki kanın serum fizyolojik içine geçmesi sağlanmıştır. İnce uçlu cam pastör pipetleri ile alınan bu ekstrakt, süzgeç kağıtlarına damlatılıp kurutulmuş ve oluşan lekelerden grup tayinleri yapılmıştır.

Alınan leke materyalinin çalışılması sırasında, herhangi bir karışıklığa sebebiyet vermemek için, A kan grubundan oluşturulan lekeler I, B kan grubundan oluşturulan lekeler II, AB kan grubundan oluşturulan lekeler III, O kan grubundan oluşturulan lekeler IV, kontrol grubu ise K olarak kodlanmıştır.

A kan grubu için anti-A, B kan grubu için anti-B serumu kullanıldığından her lekeden iki kez leke alınmış, alınan birinci lekeye A, ikinci lekeye B, lekесiz yerden alınan kontrol lekelerine ise KA ve KB denmiştir.

Lekelerden aldığımız materyal, üzerinde materyalin adı, lekenin grubu (Briкет IA, IB; Briкет IIA, IIB, Briкет Kontrol IA, IB gibi) yazılmış ve etiketler yapıştırılmış deney tüplerine konulmuştur. A tüplerine anti-A, B tüplerine anti-B serumlarından kendi damlalıklarıyla 2'şer damla damlatılarak, gece boyunca antijen-antikör birleşmesi için +4°C' de buzdolabında absorpsiyona bırakılmıştır.



Şekil 3.1. Absorpsiyon-inhibisyon metodunda kullanılan port-tüp şeması.

Şekil 3.1'de görüldüğü gibi bir port tüpe (halı, briкет, yaprak gibi) incelenecek materyalin adı yazılarak üzerine yukarıdan aşağı 8 adet, soldan sağa 16 adet olmak üzere, toplam 128 tane Schiff tüpü yerleştirilmiştir. Yukarıdan aşağıya doğru birinci sıradaki tüpler; Briкет IA 1/2, ..., 1/256, ikinci sıradaki tüpler; Briкет IB 1/2, ..., 1/256, şeklinde

numaralandırılmıştır. Burada Briket, incelenecek materyalin alındığı yerin adını, I, A kan grubunu, A, kullanılan anti-serumu,  $\frac{1}{2}, \dots, \frac{1}{256}$ , dilüsyon oranını göstermektedir. Tüplerin herbirine cam pastör pipetleri ile ikişer damla serum fizyolojik damlatılarak, buzdolabından çıkarılan absorpsiyona tabi tutulmuş tüplerden alınan ikişer damla anti-serum, soldan sağa doğru birinci sıradaki ilk tüplere konulmuştur. Birinci sıranın ilk tüpünden, yani Briket IA  $\frac{1}{2}$  den alınan iki damla ikinci tüpe, yani Briket IA  $\frac{1}{4}$  e, ikinci tüpten alınan iki damla üçüncü tüpe, yani Briket IA  $\frac{1}{8}$  e, sekizinci sıradaki son tüpten alınan iki damla ise, atılarak her sıradaki anti-serumlu absorpsiyon materyali  $\frac{1}{2}$  den  $\frac{1}{256}$ ' ya kadar dilüe edilmiş ve bu işlem aynı şekilde bütün tüplere uygulanmıştır.

Kızılay kan merkezinden alınan A ve B grubu taze kanlardan, A ve B etiketli santrifüj tüplerine 2 şer cc konularak, üzerlerine tüplerin  $\frac{2}{3}$  seviyesine kadar serum fizyolojik eklenip, 3000 devirde 5 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda üstteki serum kısmı atılarak çökmüş eritrositler üzerine yeniden serum fizyolojik konularak, tekrar santrifüj edilmiştir. Bu işlem her iki kan grubuna en az üç kez uygulanmış ve son yıkamadan sonra çöken yıkanmış eritrositlerden, içinde 196 damla serum fizyolojik olan temiz tüplere dörder damla konulup, %2 lik eritrosit süspansiyonları elde edilmiştir.

$\frac{1}{256}$  ya kadar dilüe edilen anti-serumlu tüplerden A tüplerine A grubu, B tüplerine B grubu %2 lik eritrosit

süspansiyonundan birer damla konulmuştur. Tüpler 30 dakika oda ısısında bekletildikten sonra 3000 devirde 3 dakika santrifüj edilerek, antiserumların aglütinasyon kabiliyetlerinin zayıflayıp zayıflamadığı makroskopik ve mikroskopik olarak kontrol edilerek sonuçlar kaydedilmiştir.

İkinci testimiz olan absorpsiyon-elüsyon metoduna geçilmiştir.

Bu testle çalışırken, absorpsiyon-inhibisyon testi için daha önce +4°C' de buzdolabında absorpsiyona bırakılan ve içlerinden ikişer damla antiserum aldığımız tüplerdeki materyal kullanılmıştır. Buzdolabından çıkarılan bu tüpler, lekeye bağlanmamış olan antiserumları ortamdaki tamamen uzaklaştırmak amacıyla, soğuk serum fizyolojik ile en az üç kez yıkanmıştır. Wynbrand ve Chisum (1971) absorpsiyon-elüsyon testinde yıkama işleminin mutlaka soğuk hatta buzlu serum fizyolojik ile yapılması gerektiğini, oda ısısındaki serum fizyolojinin absorbe edilen antiserumları ortamdaki uzaklaştırarak metodun hassaslığını azalttığını bildirmişlerdir. Literatürde bu yıkamanın eski lekelerde 6 kez yapılmasının uygun olacağı (Gaenslen ve arkadaşları, 1984, 1986) belirtildiğinden üç kez yıkamadan iyi sonuç alınmamışsa, yıkama 3 kez daha tekrarlanmıştır. Yıkama esnasında Pastör pipetlerinin ince uçlu olmasına ve pipetle liflerin çekilmemesine özen gösterilmiştir. Yıkanan tüplerin her birine ikişer damla serum fizyolojik damlatılıp tüplerin ağzı kapatılarak, 56°C'lik su banyosunda pamuk liflerindeki antijenlere bağlanmış olan antiserumların elüsyonu için 10

dakika bekletilmiştir. Elusyon işleminin sonunda tüplerin ısını 56°C' nin altına düşürmemek ve elüsyon halindeki (yıkılarak antijenlerden ayrılmış olan) antiserumların tekrar pamuk liflerindeki antijenlere bağlanmasını önlemek için, tüpleri su banyosunun içinden çıkartmadan, içlerinden pastör pipetleriyle birer damla antiserumlu serum fizyolojik çekilerek, şekil 2' de görüldüğü gibi önceden etiketlenmiş ve bir port-tüpe dizilmiş olan Schiff tüplerine aktarılıp, A tüplerine A, B tüplerine % 2'lik B eritrosit süspansiyonundan birer damla damlatılmıştır. 3000 devirde 3 dakika süreyle santrifüj edildikten sonra, tüplerde aglütinasyon olup olmadığı makroskopik ve mikroskopik olarak değerlendirilip kaydedilmiştir.

		I	II	III	IV	K I	K II	K III	K IV
Briket	A	○	○	○	○	○	○	○	○
	B	○	○	○	○	○	○	○	○
Tuğla	A	○	○	○	○	○	○	○	○
	B	○	○	○	○	○	○	○	○

Şekil 3.2. Absorbsiyon-elüsyon metodunda kullanılan port-tüp şeması.

#### 4.BULGULAR

Yaptığımız çalışmada absorbsiyon-inhibisyon, absorbsiyon-elüsyon metotları ile 2 yıl sonuna kadar elde edilen bulgular tablo 4.1 ve tablo 4.2'de sunulmuştur.

Kumaştan alınan kan lekelerinden absorbsiyon-inhibisyon yöntemiyle yapılan kan grup tayininde, AB kan grubundan olan lekelerden 90 gün süreyle müsbet sonuçlar alınmış, diğer bütün gruplardan 2 yıl boyunca müsbet sonuçlara ulaşılmıştır. Absorbsiyon-elüsyon metoduyla yapılan çalışmada, A grubu lekeden 120. günde yalnızca negatiflik elde edilmiş olup A, B ve O gruplarında 2 yıl içerisinde müsbet sonuçlar bulunmuş, AB grubu lekeden ise 120. günden sonra menfi sonuçlar alınmıştır.

Halı üzerindeki kan lekelerinden absorbsiyon-inhibisyon metodu ile yapılan kan grup tayinlerinde 1 yıl sonuna kadar AB grubundaki lekelerden müsbet sonuç alınmış, bunun dışındaki tüm gruplardan 2 yıl boyunca uyumlu sonuçlar elde edilmiştir. Absorbsiyon-elüsyon metodunda ise 1 yıldan sonra B grubundan, 1,5 yıldan sonra da O grubundan doğru sonuç alınamamış, diğer gruplardan 2 yıl boyunca müsbet sonuçlar alınmıştır.



Tablo 4.1. Absorbsiyon-inhibisyon yöntemi ile 2 yıl sonuna kadar elde edilen bulgular.

Materyal	Grup	30	45	60	75	90	120	150	180	270	1yıl	1.5yıl	2yıl
Kumaş	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	AB	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	O	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Halı	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	AB	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	O	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Duvar Kağıdı	A	+	+	+	+	+	YN	+	+	+	+	-	-
	B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	AB	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	O	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Fayans	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	AB	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	O	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Briket	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	B	+	+	+	+	+	YN	+	+	+	+	+	+
	AB	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	O	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tuğla	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	B	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	AB	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	O	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Bahçe Toprağı	A	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	+	+	YN	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	AB	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	O	+	YN	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kireçli Toprak	A	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	AB	+	YN	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	O	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gübreli Toprak	A	+	YN	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	AB	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	O	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Yaprak	A	+	+	+	+	+	-	Çalışmadan Çıkarıldı					
	B	+	+	+	+	+	+						
	AB	+	YN	+	+	+	-						
	O	+	+	+	+	+	-						
Ağaç	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	AB	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	O	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

YN: Yalancı negatiflik.

Tablo 4.2. Absorbsiyon-elüsyon metodu ile 2 yıl sonuna kadar elde edilen bulgular.

Materyal	Grup	30	45	60	75	90	120	150	180	270	1yıl	1.5yıl	2yıl
Kumaş	A	+	+	+	+	+	YN	+	+	+	+	+	+
	B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	AB	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	O	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Halı	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	AB	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	O	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Duvar Kağıdı	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	AB	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	O	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Fayans	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	AB	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	O	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Briket	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	AB	+	+	+	+	+	YN	+	+	+	+	-	-
	O	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tuğla	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	AB	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	O	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Bahçe Toprağı	A	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	B	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	AB	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	O	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Kireçli Toprak	A	+	-	-	YP	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	AB	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	O	+	YN	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Gübreli Toprak	A	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	AB	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	O	+	YN	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Yaprak	A	+	+	+	+	+	+	Çalışmadan Çıkarıldı					
	B	+	+	+	+	+	+						
	AB	+	+	+	+	+	+						
	O	+	+	+	+	+	-						
Ağaç	A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	B	+	+	+	+	+	+	YN	+	+	+	+	+
	AB	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	O	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

YN: Yalancı Negatiflik.

YP: Yalancı Pozitiflik.

Duvar kağıdından alınan kan lekelerinden absorpsiyon-inhibisyon metoduyla yapılan kan grup tayininde, A grubundan 120. günde bir kez yalancı negatif sonuç alınmış, bunun dışında 1 yıl boyunca müsbet sonuca ulaşılmış, B grubundan 2 yıl süreyle, AB ve O grubundan 1,5 yıl sonuna kadar, absorpsiyon-elüsyon metoduyla ise A grubundan 2 yıl, B, AB ve O gruplarından 1,5 yıl boyunca müspet sonuçlar elde edilmiştir.

Fayanstan alınan kan lekelerinden absorpsiyon-inhibisyon yöntemiyle yapılan kan grup tayininde, AB grubundan 1 yıl, A, B, ve O gruplarından 2 yıl süreyle, absorpsiyon-elüsyon metodunda ise AB grubundan 1,5 yıl, diğer gruplardan ise 2 yıl boyunca müsbet sonuçlar alınmıştır.

Briket üzerindeki lekelerden absorpsiyon-inhibisyon metoduyla yapılan grup tayininde, AB grubundan 1 yıl, diğerlerinden 2 yıl süreyle müsbet sonuçlar alınmış, B grubunda 120. günde bir kez yalancı negatif sonuç görülmüş, absorpsiyon-elüsyon metoduyla yapılan kan grup tayininde de 120. günde AB grubunda bir kez yalancı negatif sonuç bulunmuş, ancak diğer gruplardan 2 yıl süreyle müsbet sonuçlar alınmıştır.

Tuğla üzerinden alınan kan lekelerinden absorpsiyon-inhibisyon metoduyla yapılan kan grup tayininde, B grubundan 90 gün, A grubundan 1 yıl, AB ve O grubundan

1,5 yıl süreyle, absorpsiyon-elüsyon metodu ile yapılan kan grup tayinlerinde, A grubundan 270 gün, AB ve O grubundan 1,5 yıl, B grubundan lekelerden ise 2 yıl boyunca müsbet sonuçlar elde edilmiştir.

Bahçe toprağındaki kan lekelerinden absorpsiyon-inhibisyon yöntemi ile yapılan kan grup tayininde, O grubunda 45., B grubunda 60. günde bir kez yalancı negatiflik elde edilmiş olup A, AB ve O gruplarında 60 gün, B grubunda 90 gün süreyle, absorpsiyon-elüsyon metoduyla yapılan grup tayininde, AB grubundan 45 gün, B ve O grubundan 90 gün, A grubundan ise 120 gün sonuna kadar müsbet sonuç alınmıştır.

Kireçli topraktaki kan lekeleriyle yapılan absorpsiyon-inhibisyon metodunda, A grubundan 30 gün, AB ve O grubundan 60 gün, B grubundan ise 120 gün süreyle müsbet sonuç alınmış, ancak AB grubunda 45. günde bir kez yalancı negatiflik görülmüş, absorpsiyon-elüsyon metoduyla ise, A ve B gruplarından 30 gün, AB grubundan 45 gün, O grubundan 75 gün süreyle müsbet sonuçlar elde edilmiş, A grubunda 75. günde bir kez yalancı pozitifliğe rastlanmıştır.

Gübreli topraktan alınan kan lekelerinden absorpsiyon-inhibisyon metodu ile yapılan grup tayinlerinde, O grubundan 45 gün, diğer gruplardan 75 gün süreyle müsbet sonuç elde edilmiş, A grubunda 45. günde bir kez yalancı negatifliğe rastlanmış, absorpsiyon-elüsyon metoduyla ise,

AB grubundan 30, A ve B grubundan 45, O grubundan 60 gün boyunca müsbet sonuçlara ulaşılmış, O grubunda 45. gün bir kez yalancı negatiflik bulunmuştur.

Bahçe toprağı, Kireçli toprak ve gübreli toprakta ki lekelerden diğer lekelerle göre çok daha kısa sürelerde menfi sonuçlar alınması üzerine, bu lekelerden mixed aglütinasyon metoduyla yeniden grup tayinleri yapılmış ve yine aynı sürelerde negatif sonuçlar elde edilmiştir.

Yapraktan alınan kan lekelerinden absorbsiyon-inhibisyon yöntemiyle yapılan kan grup tayininde, A, AB ve O grubundan 90 gün, B grubundan 120 gün süreyle müsbet sonuç alınmış, 45. günde AB grubunda bir kez yalancı negatiflik görülmüş, absorbsiyon-elüsyon metoduyla, O grubundan 90, A, B ve AB grubundan 120 gün süreyle müsbet sonuçlara ulaşılmış, ancak 120. günden sonra yapraklar üzerindeki kan lekeleri kuruyup, pul pul dökülerek kaybolduğundan, grup tayinine elverişli leke kalmamıştır. Bu nedenle daha ileri süreler için çalışma yapılamamıştır.

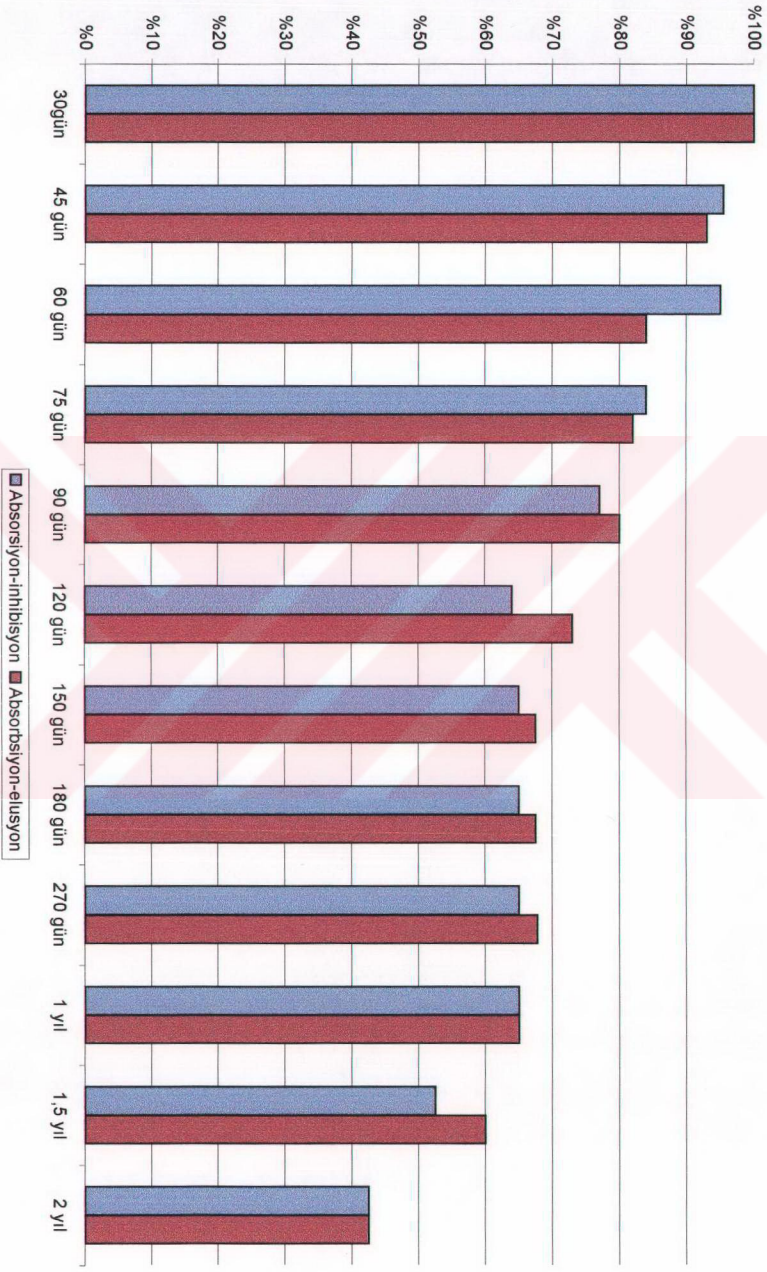
Ağaç üzerindeki kan lekelerinden absorbsiyon-inhibisyon ve absorbsiyon-elüsyon yöntemleriyle yapılan kan grup tayinlerinde, tüm gruplardaki lekelerden iki yıl sonuna kadar müspet sonuçlar alınmış, absorbsiyon-elüsyon metodunda B grubunda 150. günde bir kez yalancı negatiflik görülmüştür.

Absorbsiyon–inhibisyon ve absorbsiyon–elüsyon metotlarıyla yapılan grup tayinlerinde, iki yıl içerisinde alınan müsbet sonuçlar grafik 4.1.'de gösterilmiştir.

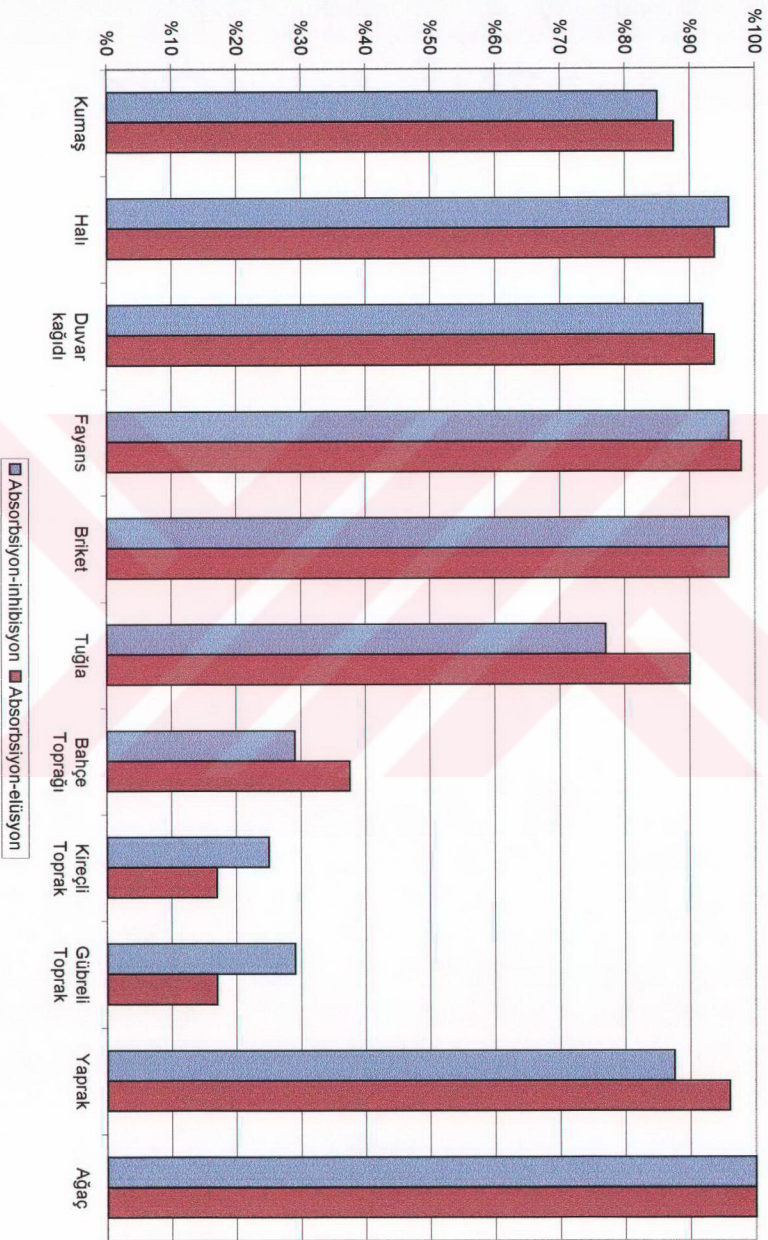
Kan lekelerinin rastlanabileceği düşünölen materyaller üzerinde oluşturulan lekelerden, iki yıllık süre içerisinde absorbsiyon–inhibisyon ve absorbsiyon–elüsyon metotlarıyla elde edilen müsbet sonuçlar grafik 4.2'de gösterilmiştir.

Absorbsiyon–inhibisyon (Grafik 4.3) ve absorbsiyon–elüsyon (Grafik 4.4) metotları ile tüm materyallerden, 2 yıl içerisinde A, B, AB, O kan gruplarına göre ortalama müsbet sonuç alınma yüzdeleri, absorbsiyon–inhibisyon metodunda A grubunda % 73,33, B grubunda % 76,97, AB grubunda % 65,76, O grubunda ise, % 75,00 bulunmuştur. Absorbsiyon–elüsyon metodunda müsbet sonuç alınma yüzdeleri, A grubunda %75,68, B grubunda % 74,92, AB grubunda % 65,98, O grubunda ise, % 72,20 bulunmuştur.

Ortalama müspet sonuç alınma yüzdesi, diğör gruplara göre her iki metotta da AB grubunda düşük bulunmuştur.

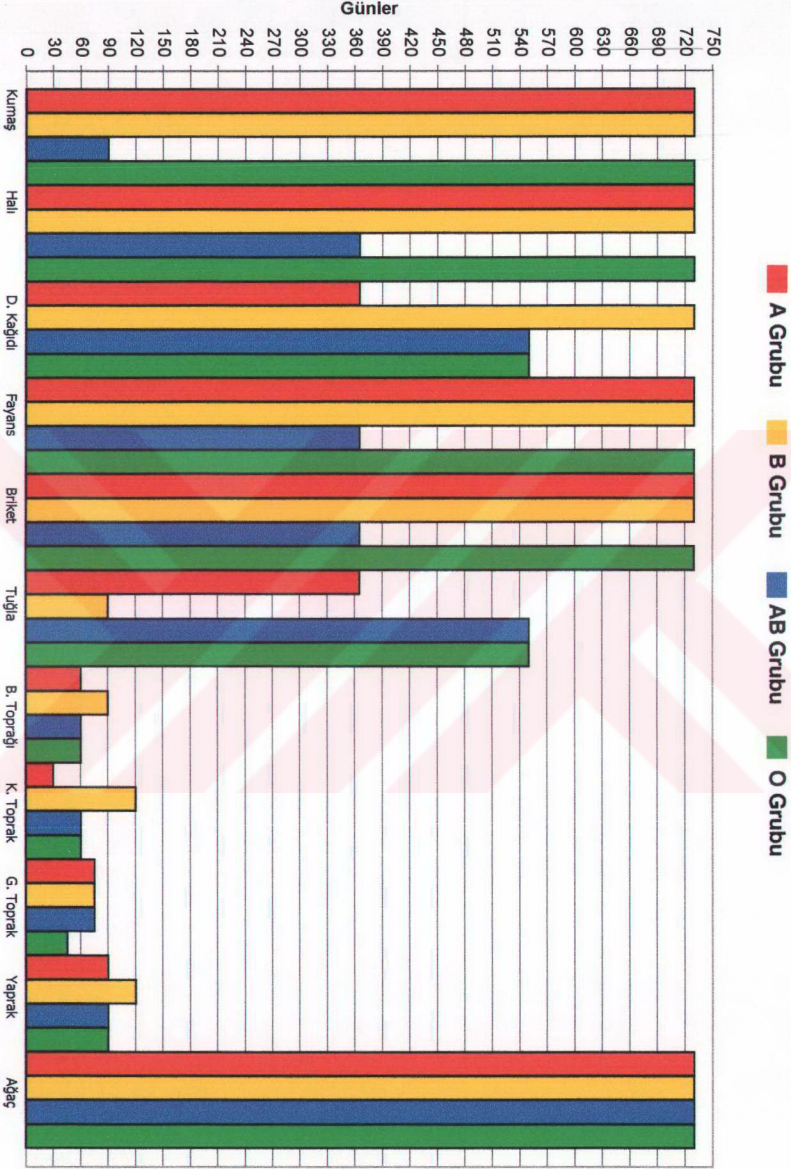


Gratik 4.1. Absorbsiyon-inhibisyon ve Absorbsiyon-elusyon metodları ile yapılan kan grup tayinlerinde 2 yıl içinde alınan mütşbet sonuçlar

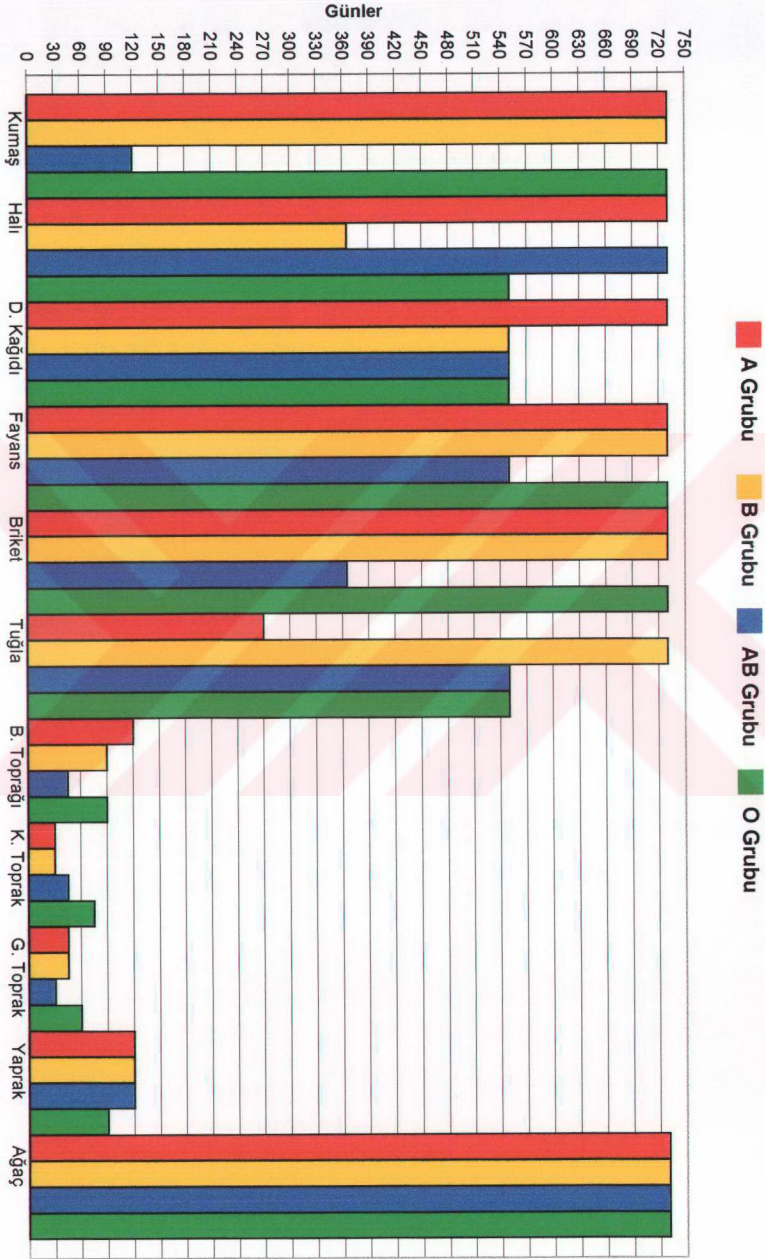


Gratik 4.2. İki yıllık sürede geçitli ortamlarda oluşturulan kan lekelerinden Absorbsiyon-inhibisyon ve Absorbsiyon-eliisyon metotları ile elde edilen doğru sonuçların karşılaştırılması





Gratik 4.3. Absorbsiyon-inhibisyon metoduyla 2 yıl boyunca A, B, AB ve O gruplarından materyal ve günler göre alınan doğru sonuçlar.



Grafik 4.4. Absorbsiyon-ellişyon metoduyla 2 yıl boyunca A, B, AB ve O gruplarından materyal ve günlerine göre alınan doğru sonuçlar.

## 5.TARTIŞMA

Olay mahallinde sıklıkla rastlanabileceği düşünölen materyaller üzerinde oluşturulan kan lekelerinden, absorpsiyon–inhibisyon ve absorpsiyon–elüsyon metotları ile yapılan grup tayinlerinde, genellikle 45 günlük bir süreden sonra müsbet sonuç alınamaması, literatürde belirtildiği gibi bakteriyel kontaminasyona (Schwerd ve Noll, 1984) veya kireç gibi ortamda protein çöktüren maddelerin bulunmasına bağlanabilir (Tunalı, 1988, s.:41). Kullanılan her iki metot arasında süre bakımından çok bariz bir fark bulunmamakla birlikte, absorpsiyon–elüsyon metodunda bakteriyel kontaminasyonun daha etkili olduğu görölmektedir. Ayrıca bahçe toprağı, kireçli toprak ve gübreli topraktaki kan lekelerinden uzun süre müsbet sonuç alınamaması, bu ortamlarda kanın antijen özeliğini de diğör ortamlara göre daha kısa sürede kaybetmesine bağlanabilir. Çalışmamızda kullandığımız topraklar dışında oluşturulan kan lekelerinden, her iki metotla da 1,5–2 yıl gibi oldukça uzun süre müsbet sonuçlar elde edilmiştir.

Her bir metot için, 730 günde 1780 grup tayini yapılmış olup, absorpsiyon–inhibisyon metodunda 7 yalancı negatiflik (% 0,39), absorpsiyon–elüsyon metodunda 4 yalancı negatiflik (% 0,22), 1 yalancı pozitiflik (% 0,06) bulunmuştur. Soğuk aglütinilerin varlığında ve eritrosit süspansiyonunun kontamine olduğu hallerde sahte aglütinasyon oluşabilir. Tesbit edilen yalancı pozitifliklerin sebebi de bu bakımdan kontaminasyona bağlanabilir.

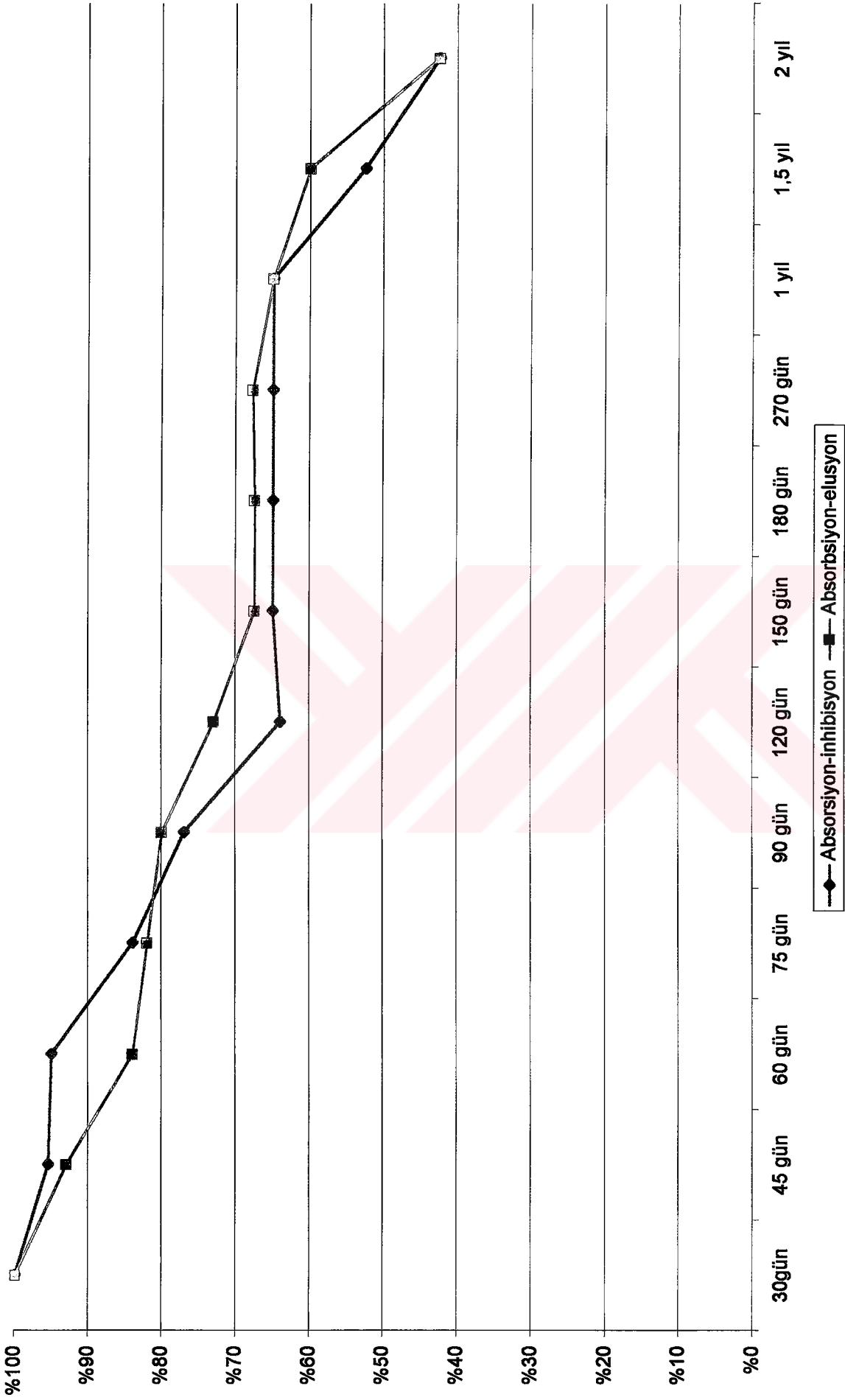
Anti-A, anti-B serumlarının yetersiz olmasında, bunların uzun süre oda ısısında kalması ve birçok defa dondurulup, kullanılırken eritilmesi halinde, antikor kuvvetlerini kaybetmelerine bağılı olarak yalancı negatiflikler görülebilir (Özer, 1980, s.:165-166).

Deneylerimizde çok küçük oranda yalancı pozitiflik ve yalancı negatiflik tesbit edildiğinden, bu yalancı sonuçlar değerlendirmeye alınmamıştır.

Eritrositlerde hemoliz olması da negatif sonuçlara neden olabilir (Özer, 1980, s.:166). Absorbsiyon-elüsyon metodunda bakteriyel kontaminasyon hemolize neden olabilmektedir (Schwerd ve Noll, 1984).

Leke oluşturduğumuz materyallerden yapılan grup tayinlerinde, her iki yöntemde de hemen hemen bütün lekelerden AB grubunda daha kısa sürede negatif sonuçlar alınması, AB grubu lekelerdeki antijenlerin daha çabuk bozulmasına bağlanabilir.

Bahçe toprağı, kireçli toprak ve gübreli toprak dışındaki diğer örneklerden 1,5-2 yıl arasında müsbet sonuçlar alınması, kan lekelerinde uzunca bir süre grup tayini yapılabileceğini ortaya koymuştur.



Grafik 5.1. Absorbsiyon-inhibisyon ve Absorbsiyon-elusyon metotları ile yapılan kan grup tayinlerinde 2 yıl içerisinde alınan müsabet sonuçların karşılaştırılması

**Grafik 5.1'de görüldüğü gibi absorpsiyon–inhibisyon ve absorpsiyon–elüsyon metotları ile yapılan grup tayinlerinde, müsbet sonuç elde edebilme açısından, iki metodun birbirine bariz bir üstünlüğünün bulunmadığı tespit edilmiştir.**



## 6.SONUÇ

Çalışmamızda, kan lekelerinden grup tayininde, absorbsiyon–inhibisyon ve absorbsiyon–elüsyon metotları arasında bariz bir fark olmadığı, leke miktarının yeterli olması halinde, bu iki deneyin birlikte tatbik edilmesinin sonucu daha da kesinleştireceği, leke miktarının iki teste yetmeyecek kadar az olması halinde, absorbsiyon–elüsyon testine de güvenilebileceği, ancak absorbsiyon–elüsyon testinin, bahçe toprağı, kireçli toprak, gübreli toprak gibi ortamlardan alınan lekelerden, absorbsiyon–inhibisyon testine nazaran daha kısa sürelerde menfi sonuçlar verdiği tesbit edilmiştir.

Bütün materyallerde A, B, AB, O grubu kanların 2 yıllık ortalama doğru sonuç alınma yüzdeleri, absorbsiyon–inhibisyon metodunda % 72,77, absorbsiyon–elüsyon metodunda % 73,45 bulunmuştur. Bu iki metod arasında müsbet sonuç alınma açısından % 0,68 oranında bir farkla absorbsiyon–elüsyon metodu daha hassas görünmekte ise de, istatistiki olarak bir fark yoktur ( $p>0,05$ ). Bu bakımdan leke miktarı çok az olduğu takdirde absorbsiyon–elüsyon metodunun kullanılması yeterli olabilecektir.

Bahçe toprağı, kireçli toprak, gübreli toprak gibi ortamlarda bulunan kan lekelerindeki antijenlerin, diğer ortamdakilere göre çok daha kısa zamanda tahrip olması sebebiyle, olay yeri araştırmasının kısa sürede itinalı bir şekilde yapılması ve buralardan alınacak örneklerin çok kısa sürede grup tayini yapılacak merkezlere gönderilmesi uygun olacaktır.

**ÖZET****Kan Lekelerinden Absorbsiyon–İnhibisyon ve Absorbsiyon–Elüsyon Metotları ile Yapılan ABO Kan Grup Tayinlerine Çevresel Faktörlerin Etkisi**

Bu çalışmada, olay mahallinde sıklıkla karşılaşılabileceği düşünülen kumaş, halı, duvar kağıdı, fayans, briket, tuğla, bahçe toprağı, kireçli toprak, gübreli toprak, yeşil yaprak ve ağaç gövdesi üzerinde oluşturulan kan lekelerinden, grup tayininde sıklıkla kullanılan absorbsiyon–inhibisyon ve absorbsiyon–elüsyon metotları ile iki yıl boyunca kan grup tayinleri yapılarak, grup tayini üzerine sürenin etkisi ve bu metotların hassasiyetleri araştırılmıştır. Elde ettiğimiz bulgular sonucunda, oluşturulan bu lekelerden yapılan grup tayinlerinde iki metot arasında bariz bir fark olmadığı, ancak absorbsiyon–elüsyon metodunun bahçe toprağı, kireçli toprak ve gübreli toprakta daha kısa sürelerde menfi sonuçlar verdiği tesbit edilmiştir.

**Anahtar Sözcükler:** ABO kan grupları, absorbsiyon–inhibisyon, absorbsiyon–elüsyon, çevresel faktörler, kan lekeleri.



## **SUMMARY**

### **Impacts of Environmental Factors on ABO Blood-Typings from the Blood-Stains Through the Methods of Absorption-Inhibition and Absorption-Elution**

In this study, the impact of time on blood-typing and the sensitivity of these methods were investigated, carrying out blood-typing during two years by means of absorption-inhibition and absorption-elution methods, frequently employed in blood stains on cloth, carpet, wall paper, ceramic surfaces, cement block, brick, garden soil, lime soil and fertilized soil, green leaf and tree trunks that can readily be encountered on the spot event has occurred. In view of the results of this study, it has been concluded that there is no clear difference between the two methods by which blood-typings have been carried out from the stains made but absorption-elution method has yielded negative results on garden soil, lime soil, and fertilized soil in shorter periods of time.

**Key Words:** ABO blood groups, absorption-inhibition, absorption-elution, blood stains, environmental factors.

## KAYNAKLAR

- ALBAYRAK, A., 1985, Kan Grupları ve Hemoterapi, Erzurum, Atatürk Üniversitesi Basımevi, s.: 1-28
- ALTUN, A., KELLECE, L., ALPER, B., SALAÇIN, S., 1994, Kan Gruplarının Saptanmasında jel test (phast gel) Yöntemi. I.Adli Bilimler Kongresi 12-15 Nisan, *Kongre Kitabı*, s.:353-354.
- ANDRASKO, J., 1997, The Estimation of Age of Bloodstains by HPLC Analysis. *Journal of Forensic Sciences*, Vol.42, No.4, pp.:601-607.
- ANSTEE, D. J., MALLINSON, G., 1994, The Biochemistry of Blood Group Antigens-Some Recent Advances, *Journal Article ; Review*, 67 Suppl. 3:1-6.
- ARDALI, C., 1951, Kan Grupları ve Faktörlerinde Son İlerlemeler ve Adli Tıp Meseleleri. Ankara, Örnek Matbaası s.:2-11.
- AYKAÇ, M.,1993, Adli Tıp, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, s.:212-219.
- BAŞARAN, N., 1985, Tıbbi Genetik, Bilim Teknik Yayınevi, İstanbul, s.: 182-470.
- BAŞARAN, N., 1996, Tıbbi Genetik, Ders Kitabı. 6. Basım, Bilim Teknik Yayınevi, Eskişehir, İstanbul.
- BİLGEHAN, H., 1989, Temel Mikrobiyoloji. ve Bağışıklık Bilimi, Barış Yayınları Fakülteler, Kitabevi, 4. baskı, İzmir, s.:380-429.
- BOORMAN, K.E., DOOD, B.E., LINCOLN, P.J., 1988, Blood Group Serology, 6th ed., Churchill Livingstone, London.
- BÜYÜKYÜKSEL, C., 1974, Kan Grupları Teknik ve Klinik Tatbikatı, Yenilik Basımevi, İstanbul, s.18-23
- CAMPS, F.E., 1968, Gradwohl's Legal Medicine, 2<sup>nd</sup>. ed., John Wright & Sons Ltd., Bristol, s.:168-210.
- CARTRON, J.P., 1994, Defining the Rh Blood Group Antigens: Biochemistry and Molecular Genetics, *Blood Reviews*, 8:199-212.
- CHÉRIF-ZAHAR, B., RAYNAL, V., D'AMBROSIO, A.-M., CARTRON, J.P., COLIN, Y.,1994, Molecular Analysis of the Structure and Expression of the RH Locus in Individuals With D--, Dc-, and

DC<sup>w</sup>- Gene Complexes. *Blood*, Vol 84, No 12 (December 15), 1994: 4354-4360.

COX, M., 1991, A Study of the Sensitivity and Specificity of Four Presumptive Tests for Blood. *Journal of Forensic Sciences*, JFSCA, Vol. 36, No. 5, pp.:1503-1511.

CRAINIC, K., DURIGON, M., ORIOL, R., 1989, ABO Tissue Antigens of Egyptian Mummies. *Forensic Science International*, Vol. 43, pp.:113-124.

ÇANGA, Ş., ÖNDER, İ., 1961, Rh/rh Kan Faktörleri Sistemi ve Erythroblastosis Föetalis Hastalık Kompleksi, Balkanoğlu Matbaacılık Ltd.Şti., Ankara, s.: 217

DUJARRIC DE LA RIVIÈRE, R., EYQUEM, A., 1953, Les Groupes Sanguins chez les Animaux (Individualité Sanguine et Tissulaire), Collection de l'Institut Pasteur, Édition Medicales Flammarion, Paris, p.:12

EKMEN, H., 1965, Kan Grupları, *Sağlık Hizmetinde Mikrobiyoloji 1 Genel Mikrobiyoloji*, Ed: S. Payzın, K. Özsan, N.H. Fişek, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, s.: 398-421.

ERSKINE, A.G., 1973, The Principles and Practice of Blood Grouping, The C.V. Mosby Company, Saint Louis, U.S.A., p.:3-6.

FINE, J-M., 1963, Les Groupes Sanguins Techniques Usuelles d'Immuno-Hematologie, 2éme éd., Édition de la Tourelle, St. Mandé (Seine), p.:21-26.

FLETCHER, S.M., STEPHENS, D.M., 1987, An Evaluation of anti-A and anti-B Monoclonal Antibodies for ELISA Grouping of Blood and Body Fluid Stains. *Revue Française de Transfusion et Immuno-hematologie*, Vol.30, No.5, pp.:421-428.

GAENSSLEN, R.E., LEE, H.C., CARROLL, J.E., 1984, Evaluation of Monoclonal Anti-A and Anti-B and Affinity-purified *Ulex europaeus* Lectin I for Forensic Blood Grouping. *Z. Rechtsmed.* 93:259-268.

GAENSSLEN, R.E., LEE, H.C., DeGRAW, S.S., CARROLL-REHO, J., 1986, Studies on ABH Antigen Grouping of Ammoniacal Extracts of Bloodstains by Absorption-Elution. *Forensic Science International*. 31:145-157.

GIBLETT, E. R., 1987, Blood Groups and Blood Transfusion, *In: Harrison's Principles of Internal Medicine 2*. Ed.: E. Braunwald, K.J. Isselbacher, R.G. Petersdorf, J.D. Wilson, J.B. Martin,

A.S. Fauci. 11<sup>th</sup> ed., New York: Mc Graw-Hill Book Company, Vol:2, pp.:1483-1489.

GUYTON, A.C., 1986, Textbook of Medical Physiology, 7th ed., *Tıbbi Fizyoloji*, Çev.: N. Gökhan, H.Çavuşoğlu, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, s.: 103-104.

IŞIK, A.F., TUNALI, I., 1994, Diş Pulpasından ABO Kan Grubu Tayini. 1. Ulusal Adli Tıp Kongresi, 1-4 Kasım 1994, P1, s.:21.

JOBLING, M.A., PANDYA, A., TYLER-SMITH, C., 1997, The Y Chromosome in Forensic Analysis and Paternity Testing. *Int. J. Legal Med.*, 110:118-124.

KABAT, E.A, 1956, Blood Group Substances, Their Chemistry and Immunochemistry. New York, Academic Press Inc., p.: 2-13

KAMAY, B., 1951, Adli Tıp. İkinci cilt, Ankara, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, Sayı.:22, s.:56-69.

KANEKO, M., SHOKO, N., NAKO, S., TAKASHI, K., HIROKO, I., TAIKO, S., YASUTO, O., HISASHI, N., 1997. Wide Variety of Point Mutations in the H Gene of Bombay and Para-Bombay Individuals That Inactivate H Enzyme. *Blood*, Vol 90, No 2 (July 15), pp 839-849.

KELLECE, L., ALTUN, A., ALPER, B., SALAÇIN, S., Kan Gruplarının Saptanmasında Mikroplate Yöntemi. I.Adli Bilimler Kongresi, 12-15 Nisan, *Kongre Kitabı*, s.:355-357.

KENDİ, I.Ö., BİLGE, Y., TUNALI, I., 1995, Fenolftalein Reaktifinin Reaksiyon Verme Kabiliyetini Bozan Maddeler Olup Olmadığı Hakkında Bir Araştırma. 8. Ulusal Adli Tıp Günleri, 16-20 Ekim 1995, P2, s.:24.

KIMURA, H., MATSUZAWA, S., 1991, Lewis Blood Group Determination in Blood Stains by Planimetrik Measurement of Eluted Monoclonal Antibodies. *Journal of forensic Sciences*, JFSCA, Vol.36, No.4, pp.:999-1009.

KIMURA, A., UDA, T., NAKASHIMA, S., IKEDA, H., YASUDA, S., OSAWA, M., TSUJİ, T., 1993, ABO Blood Grouping of Bloodstains by Sandwich ELISA Using Monoclonal Antibody Specific for Human Red Cell Band 3. *International Journal of Legal Medicine*, Vol.105, pp.:209-212.

KIRMAN, B., GÜVEN, E., 1953, Kriminalistik, Numune Basımevi, Ankara.

- KNIGHT, B., 1977, Forensic Medicine, Ed: C.G. Tedeschi, W.G. Eckert, L.G. Tedeschi, New York, W.B. Saunders Comp., Ch. XX p.:810-814.
- KNIGHT, B., 1997, Simpson's Forensic Medicine, Eleventh ed., Oxford University Press, Inc., New York. p.38-39-43.
- LAUX, D.L., 1991, Effects of Luminol on the Subsequent Analysis of Bloodstains, *Journal of Forensic Sciences*, JFSCA, Vol. 36, No. 5, pp.:1512-1520.
- LEE, H.C., GAENSSLEN, R.E., PAGLIARO, E.M., NOVITCH, B., 1988, Two-Dimensional Absorption-Inhibition. *Journal of Forensic Sciences*, Vol.33, No.5, pp.:1127-1138.
- LEE, H.C., BERKA, K.M., FOLK, N.L., PAGLIARO, E.M., CARROLL-REHO, J., BRUBAKER, T.L., GAENSSLEN, R.E., 1991, Genetic Markers in Human Bone: II. Studies on ABO (and IGH) Grouping. *Journal of Forensic Sciences*, JFSCA, Vol. 36, No. 3, May., pp.:639-655.
- LÖTTERLE, J., BERNS, B., KERN, H., 1986, Micromethod for Grouping Red Blood Cell Antigens in Stains. *Zeitschrift für Rechtsmedizin*, Vol.96, pp.:163-171.
- MACKENZIE, I. C., DABELSTEEN, E., MANDEL, U., 1989, Expression of Blood Group Antigen-Related Carbohydrates by Human Gingival Epithelia. *J. Periodont. Res.*, Vol. 24, pp.:289-297.
- MARSHALL, M., BIRD, T., 1983, Blood Loss and Replacement, *Kan Transfüzyonu; Temel Bilgiler*, Çev.: O.Ş. Yenen, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul s.: 18-43.
- MARTIN, E., 1950, *Médecine Légale*, Troisième éd., G.Doin & C<sup>IE</sup>-Éditeurs, Paris, p.:120-126.
- MATSUZAWA, S., KIMURA, H., ITOH, Y., WANG, H., NAKAGAWA, T., 1993, A Rapid Dot-Blot Method for Species Identification of Bloodstains. *Journal of Forensic Sciences*, Vol. 38, No.2, pp.:448-454.
- MAYR, W.R., 1988, The Detection of HLA Antigens in Blood Stains. *Zeitschrift für Rechtsmedizin*, Vol.101, pp.:209-217.
- MORIYA, F., NANIKAWA, R., 1989, Determination of MN Blood Group from Blood Stains by Electrophoresis and Immunoblotting. *Zeitschrift für Rechtsmedizin*, Vol.103, pp.:21-25.

MOURANT, A.E., 1954, The Distribution of the Human Blood Groups, Blackwell Scientific Publications, Oxford, p.:6-7.

MUDD, J.L., 1986, A Microplate Method for Reverse ABO Typing of Bloodstains. *Journal of Forensic Sciences*, JFSCA, Vol.31, No.2, April, pp.:418-425.

MUDD, J.L., ADAMS, D.E., 1990, A Modification of the Microplate Method for Reverse ABO Typing of Bloodstains and Additional Validation Studies. *Journal of Forensic Sciences*, JFSCA, Vol.35, No.2, March, pp.:447-451.

NAGAMORI, H., OHNO, Y., UCHIMA, E., KAJIWARA, M., NAKAZATO, M., UNE, Y., TAKEDA, K., 1986, Sex Determination from Buccal Mucosa and Hair Root by the Combined Treatment of Quinacrine Staining and the Fluorescent Feulgen Reaction Using a Single Specimen. *Forensic Science International*, Vol.31, pp.:119-128.

NOYAN, A., 1990, Fizyoloji ders kitabı, yedinci baskı, Meteksan A.Ş. Ankara, s.:684-686.

ÖTKER, C., IŞIK, A.F., KENDİ, İ.Ö., TUNALI, İ., ZENTÜRK, C., 1994, Kan Lekelerinden Mixed Aglütinasyon Yöntemiyle ABO Grup Tayini. I. Adli Bilimler Kongresi. 12-15 Nisan 1994, *Kongre Kitabı*, s.:141-143.

ÖZEN, C., SÖZEN, H., 1971, Adli Tıp ve Toksikoloji, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Yayınlarından, Sermet Matbaası, İstanbul, s.: 226-246.

ÖZER, A., 1980, Pratik Hematoloji, Ege Üniversitesi Ege Tıp Fakültesi Yayınları:76, Ege Üniversitesi Matbaası, İzmir, s.:165,166,566.

ÖZTÜREL, A., 1979, Adli Tıp, Sevinç Matbaası, Ankara, s.: 326-410.

PFLUG, W., BÄSSLER, G., EBERSPÄCHER, B., 1989, ABO and Lewis Typing of Secretion Stains on Nitrocellulose Membranes Using a New Dot-Blot Elisa Technique. *Forensic Science International*, Vol. 43, pp.:171-182.

PIÉDELIEVRE, R., FOURNIER, E., 1963, Médecine Légale, J.B. Baillière et Fils, Éditeurs, Paris, p.:354-361.

PONSOLD, A., 1967, Lehrbuch der Gerichtlichen Medizin, 3. Auflage, Stuttgart, Georg Thieme Verlag, p.:473-496.

PROKOP, O., 1960, Lehrbuch der Gerichtlichen Medizin, Berlin, Veb Verlag Volk und Gesundheit, p.:297-304.

- RACE, R.R., SANGER, R., 1968, Blood Groups in Man, Blackwell Scientific Publications, Oxford and Edinburg, p.: 1-3.
- SALAÇIN, S., KELLECE, L., ALTUN, A., ÇÖLKESEN, Z., ALPER, B., 1994, Adli Amaçlarla Kan ve Semen Lekelerinin İdentifikasyon ve Kimliklendirilmesinde Kullanılan Yöntemler. 1. Adli Bilimler Kongresi.
- SAKAMOTO, H., NAKANOIN, K., KOMATSU, H., MICHIMOTO, T., TAKASHIMA, E., FURUYAMA, J., 1988, Fertility Control at the XXth Universiade in Kobe, Japan. *Int. J. Sports Med.*, Vol.9, pp.:193-195.
- SCHWERD, W., NOLL, A., 1984, Dependency of ABO Reports in Stored Blood Samples. *Z. Rechtsmed.*, Vol:93, pp.:111-116.
- SHARMA, A., CHATTOPADHYAY, P.K., 1993, Blood Groups and Enzyme Types from Human Teeth. *Journal of the Forensic Science Society*, Vol.33, No.1, pp.:39-44.
- SIMONIN, C., 1955, *Medécine Légale Judiciaire*, Troisième éd., Librairie Maloine, Société Anonyme d'Éditions Médicales et Scientifiques, Paris, p.:846-858.
- SIMPSON, K., 1961, *Forensic Medicine*, London, Edward Arnold Ltd., p.:41-43.
- SMITH, S., FIDDES, F.S., 1955, *Forensic Medicine: A Textbook for Students and Practitioners*, 10<sup>th</sup> ed. London, J.& A. Churchill Ltd. p.:208-212.
- SMITH, S., SIMPSON, K., 1956, *Taylor's Principles and Practice of Medical Jurisprudence*, 11th ed. Vol. I, J&A Churchill Ltd, London, p.:342-355.
- ŞAYLI, B.S., 1982, *Medikal Genetik:2, Temel Medikal Genetik*. Ankara, Ankara Üniversitesi Yayınları Sayı.:430, s.:170-181.
- TAKAYASU, T., OHSHIMA, T., MAEDA, H., NAGANO, T., TSUJI, T., 1988, Human-Type Blood Group Activities on Chimpanzee Erythrocytes with Special Reference to M and N. *Zeitschrift für Rechtsmedizin* 101:237-246.
- THOMSEN, H., ADAMZİK, I., 1990, Immunocytochemical Determination of ABH and MN Antigens on Dried Blood Traces in the Nanoliter Range. *Forensic Sciences International*, Vol.48, pp.:59-69.

- TOKIWA, K., 1986, A Sequence of Tests of Minute Human Blood Stains for Human Origin Identification and ABO Blood Grouping. *Zeitschrift für Rechtsmedizin*, Vol.97, pp.:157-164.
- TUNALI, I., 1988, Adli Tıp, Yarı-Açık Cezaevi Matbaası, Ankara, s.: 34-49.
- TUNALI, I., KENDİ, Ö., ZENTÜRK, C., 1986, Absorbsiyon Metodu Kullanılarak Kan Grupları ile Tükrük Lekeleri Arasındaki İlişkinin Araştırılması, Cilt 39,Sayı 1, *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası* s.:61-66.
- TUNALI, I., KENDİ, Ö.,BİLGE,Y., 1994, Buzdolabı, Oda Sıcaklığı ve Etüv Şartlarının Tükrük Lekelerinden Grup Tayinine Etkileri, 1. Ulusal Adli Tıp Kongresi, İstanbul,1-4 Kasım 1994, P2, s.:21-22.
- UNAT, E. K., 1985, Temel Mikrobiyoloji. Beta Basım Yayım Dağıtım A.Ş., İstanbul, s.:245-284.
- WEGENER, R., BULNHEIM, U., 1990, Determination of ABO Antigens in Fingernails Using the APAAP (Immunoalkaline Phosphatase) Technique. *Forensic Science International*, Vol.46, pp.:11-14.
- WIENER, A. S., KAROWE, H.E., 1965, Diagrammatic Representation of the Human Blood-Group Reactions. *In: Advances in Blood Grouping II*, Ed: A. S. Wiener, M. Shapiro, Grune & Stratton, Inc., New York, Ch.15: p.:155.
- WINTROBE M.M.,LEE, G.R., BOGGS, D.R., BITHELL, T.C., FOERSTER, J., ATHENS, J.W., LUKENS, J.N., 1981, Clinical Hematology, 8<sup>th</sup> ed., Philadelphia, Lea&Febiger, p.:455-464.
- WYNBRAND, F., CHISUM, W.J., 1971, Determination of the ABO Blood Group in Hair. *The Forensic Science Society Journal*, Vol.11, No.3, pp.:201-204.