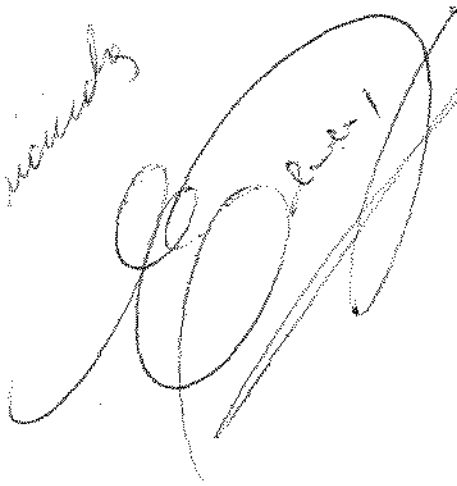


FERNANDO LUIZ DE SOUZA  
=Cirurgião-Dentista=

**DETERMINAÇÃO DOS FATORES GRUPO-ESPECÍFICOS  
NA SALIVA HUMANA ATRAVÉS DE TESTES  
DE INIBIÇÃO DA HEMAGLUTINAÇÃO**

*este exemplar  
foi devidamente arquivado  
conforme resolução OCPH/07/83  
vinculado ao 8º maio de 1995*



Tese apresentada à Faculdade de  
Odontologia de Piracicaba da  
Universidade Estadual de Campinas,  
para obtenção do grau de Mestre em  
Ciências-Área de Odontologia Legal e  
Deontologia.

PIRACICABA - SP  
= 1995 =

19/09/95

---

FERNANDO LUIZ DE SOUZA  
=Cirurgião-Dentista=

**DETERMINAÇÃO DOS FATORES GRUPO-ESPECÍFICOS  
NA SALIVA HUMANA ATRAVÉS DE TESTES  
DE INIBIÇÃO DA HEMAGLUTINAÇÃO**

Tese apresentada à Faculdade de  
Odontologia de Piracicaba da  
Universidade Estadual de Campinas,  
para obtenção do grau de Mestre em  
Ciências-Área de Odontologia Legal e  
Deontologia

Orientador: Prof. Dr. EDUARDO DARUGE

PIRACICABA - SP  
= 1995 =

---

A minha querida mãe  
**MARIA CÂNDIDA** que  
no decorrer da minha vida  
sempre me apoiou, nos  
fracassos e sucessos.

Ao meu pai **SEBASTIÃO** (*in  
memorian*) que me ensinou meus  
primeiros passos.

A minha esposa **MARA ELIANA** que  
me acompanha em todos os momentos,  
como companheira e amiga nos dias de  
felicidade e tristeza.

Ao meu filho **FERNANDO  
HENRIQUE** que ao nascer  
se desenvolveu junto com este  
trabalho.

Ao Prof. Dr. **EDUARDO DARUGE**,  
Professor Titular da Disciplina de  
Odontologia Legal e Deontologia, pela  
dedicação , honestidade e seriedade  
com que conduz suas atividades  
didáticas. Aquele que no decorrer do  
curso se tornou um verdadeiro amigo.

Ao Prof. Dr. **ROBERTO JOSÉ  
GONÇALVES**, Professor do Curso de  
Pós-Graduação de Odontologia Legal e  
Deontologia, pela maneira atenciosa que nos  
acolheu neste curso.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof. Dr. **CELSO PAULINO DA COSTA**, pelas primeiras informações técnicas fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho

Ao Dr. **ORLANDO GUIDETTI JUNIOR**, Médico Hematologista, cujo estímulo, compreensão e ajuda, tornou possível a realização deste trabalho.

A Bioquímica **MARIA DE FÁTIMA SANTOS SOUSA** e a Auxiliar Técnica de Laboratório **CRISTINA APARECIDA LOPES DA SILVA** pela atenciosa colaboração na parte técnica deste trabalho.

Aos Professores do Curso de Pós-Graduação de Odontologia Legal e Deontologia, pelo profissionalismo e espírito científico com os quais nos formaram.

As funcionárias do Curso de Pós-Graduação de Odontologia Legal e Deontologia **DINOLY ALBUQUERQUE LIMA**, **CÉLIA REGINA MANESCO**, **PAULO DO AMARAL** e **MARIA APARECIDA SIMONE**, pela amizade, carinho e atenção que me receberam e me ajudaram no decorrer desta jornada.

As Bibliotecárias **SUELI DUARTE DE OLIVEIRA** e **HELOISA MARIA CECCOTTI**, pelo auxílio na revista bibliográfica.

Aos funcionários do Centro de Processamentos de Dados, desta Faculdade pela contribuição direta na realização deste trabalho.

A Sra. **ANA MARIA COSSA**, Secretária dos Cursos de Pós-Graduação da FOP-UNICAMP, pelas inúmeras demonstrações de amizade e auxílio.

Aos funcionários JÓAO BATISTA LEITE DE CAMPOS, PEDRO SÉRGIO JUSTINO, PAULO ROBERTO RIZZO DO AMARAL, pelos relevantes serviços prestados.

A todos os Professores da Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas, agradecemos profundamente pelo apoio e incentivo.

A todos os alunos e ex-alunos do Curso de Pós-Graduação da FOP-UNICAMP, pela convivência, carinho e incentivo.

Aos alunos e doadores voluntários que forneceram o material para que se tornasse realidade este trabalho.

Ao Centro de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES), pela valiosa ajuda financeira, sem a qual não seria possível a realização desta Tese.

A todos aqueles que direta ou indiretamente colaboraram com este trabalho.

## ÍNDICE

|                                     |    |
|-------------------------------------|----|
| 1 - INTRODUÇÃO.....                 | 01 |
| 2 - REVISTA DA LITERATURA.....      | 09 |
| 3 - PROPOSIÇÃO.....                 | 26 |
| 4 - MATERIAIS E MÉTODOS.....        | 28 |
| 5 - RESULTADOS.....                 | 44 |
| 6 - DISCUSSÃO .....                 | 50 |
| 7 - CONCLUSÕES.....                 | 59 |
| 8 - RESUMO.....                     | 62 |
| 9 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 64 |
| 10 - APÊNDICE.....                  | 69 |

**CAPÍTULO 1**  
**INTRODUÇÃO**



## 1 - INTRODUÇÃO

Diversos pesquisadores, nacionais e internacionais, se dedicam ao estudo dos grupos e sistemas sangüíneos. Atualmente, inúmeros trabalhos são publicados, graças a importância multidisciplinar do assunto. Sabe-se, hoje em dia, da existência de mais de 60 antígenos diferentes nas hemácias.

O sangue foi o primeiro tecido a ser transplantado e a primeira transfusão de sangue humano bem sucedida foi feita em 1818, mas a transfusão com fins terapêuticos só se tornou segura com a descoberta do sistema ABO por **LANDSTEINER**<sup>(22)</sup>, em 1900. A partir daí, vários outros sistemas foram descobertos. A demonstração de novos alelomorfos, confirma, teoricamente, a teoria de **LANDSTAINER**<sup>(22)</sup>, de que um dia os sistemas sangüíneos seriam considerados característica individual de valor comparável ao das impressões digitais.

Segundo **ANDRESSEN**<sup>(1)</sup>, em 1947, o Sistema Lewis não deve ser utilizado em casos de exclusão de paternidade, pois se torna mutável entre a infância e a adolescência. Entretanto, a maioria dos sistemas de grupos sangüíneos, constituem caráter individual, fixo e imutável. Os aglutinogênios contidos nos glóbulos vermelhos, aparecem no indivíduo durante a vida intra-uterina, sendo evidenciáveis a partir do nascimento. Segundo **LIMA O.L. et al.**<sup>(25)</sup>, em 1977, esta sensibilidade à aglutinação é variável, crescendo desde a vida pré-natal até a puberdade. Após a puberdade, continua fixa e imutável.

Além das características já descritas, os grupos sangüíneos são transmitidos de pais para filhos, obedecendo, rigorosamente, as leis da hereditariedade genética.

Sabe-se também, da resistência às condições ambientais dos antígenos A, B e H, do sistema ABO, os quais resistem a ação do tempo, se conservam em cadáveres decompostos, sendo altamente resistentes à degradação bacteriana.

Essas propriedades permitem-nos dizer que os antígenos eritrocitários podem ser utilizados para resolver

alguns problemas em Medicina Legal, tais como: exclusão de paternidade, exclusão de maternidade, troca de recém-nascidos nas maternidades, distinção entre gêmeos mono e dizigotos e individualização de manchas.

Estudos de **FRIENDEREICH & HARTMAN**<sup>(17)</sup>, em 1938, demonstraram que as substâncias A, B e H, não estão restritas às hemácias, aparecendo na maioria dos tecidos e nas secreções, sobretudo na saliva, dos indivíduos classificados como secretores.

**SCHIFF & SASAKI**<sup>(36,37)</sup>, em 1932, demonstraram que a característica secretora é transmitida hereditariamente segundo as leis mendelianas, e, que existem dois grupos de indivíduos segundo a presença ou ausência de substâncias grupo-específicas nas secreções. O primeiro grupo, composto pelos indivíduos portadores das substâncias A, B e H nas secreções foram denominados de secretores e o segundo grupo, composto por indivíduos desprovidos de tais substâncias, foram denominados de não secretores. Os referidos autores demonstraram ainda que o gene *Se* é dominante em relação à *se*. Dessa forma, existe dois genótipos para os indivíduos secretores, sendo *SeSe* e *Sese* e um genótipo para os indivíduos não secretores *sese*.

**FRIEDENREICH & HARTMAN**<sup>(17)</sup>, em 1938, demonstraram que os antígenos do sistema ABO não estavam restritos às hemácias e que podiam ser encontrados sob a forma álcool-solúvel (glicolípideos) e hidrossolúvel (glicoproteínas). A forma solúvel em álcool, se encontra presente em todos os tecidos e eritrócitos com exceção do cérebro e demais secreções. A forma solúvel em água, se encontra ausente nos eritrócitos e presente nos líquidos e órgãos de um secretor.

**BEIGUELMAN**<sup>(3)</sup>, em 1979, demonstrou que as substâncias grupo-específicas são os antígenos hidrossolúveis A, B e H encontrados nas secreções e na maioria dos líquidos orgânicos de alguns indivíduos e os indivíduos que os apresentam são denominados secretores de ABH ou, simplesmente secretores.

Os trabalhos de **WATKINS & MORGAN**<sup>(39,40)</sup> e o de **CEPELLINI**<sup>(6)</sup>, em 1959, demonstraram o mecanismo da

formação dos antígenos A, B e H, a partir de uma substância precursora. Segundo os referidos autores, verificou-se na formação das substâncias grupo-específicas a atuação de dois pares de genes. O primeiro par atuou na transformação da substância precursora em substância H, desde que o genótipo desde indivíduo seja HH ou Hh. Caso o indivíduo possua o genótipo hh, não haverá formação de antígeno a partir da substância precursora. O indivíduo portador deste genótipo, caracteriza o fenótipo de Bombaim. O segundo par de genes, atuaram na transformação da substância H em antígenos A, B, AB ou H, dependendo claro, do genótipo do sistema ABO deste indivíduo. Os indivíduos do grupo O, conservaram a substância H inalterada.

Diversos autores, demonstraram a íntima relação entre a característica secretora e os grupos do sistema ABO. É demonstrado que os genes Se e se são os responsáveis pela presença ou ausência de substâncias grupo-específicas na saliva e demais secreções. Dessa forma, encontramos as substâncias A, B e AB na saliva de indivíduos secretores portadores dos grupos sanguíneos A, B e AB, respectivamente. Nos indivíduos do grupo O, foi encontrado somente a substância H. Em situações normais, a substância H esta presente na saliva de todos os secretores. Tal fato é explicado, graças ao trabalho de **WATKINS & MORGAN**<sup>(39,40)</sup> e o de **CEPELLINI**<sup>(6)</sup>, em 1959, que demonstraram que somente uma parcela das substância H é transformada em substâncias A e B.

Alguns autores, demonstraram a existência de secretores aberrantes, ou seja aqueles que secretam uma substância que não corresponde ao seu grupo sanguíneo do sistema ABO. **McNEIL et al.**<sup>(26)</sup>, em 1957, após o estudo de 100 amostras de saliva, constatou a presença de 6 secretores aberrantes. Em seu trabalho o autor considerou como secretor aberrante, aquele que secreta uma substância com título de 1:64 ou mais e outra substância com título de 1:4 ou menos. O mecanismo dessa secreção aberrante ainda não foi devidamente esclarecido, existindo apenas hipóteses.

**PALATINIK et al.**<sup>(28)</sup>, em 1969, adotando os critérios de classificação de **McNEIL**<sup>(26)</sup>, em uma amostra

composta por 424 negros e 267 brancos, constatou a presença de apenas 3 secretores aberrantes. Infelizmente, o autor não citou o grupo racial destes secretores aberrantes.

**FIGORE et al.**<sup>(13,14,15,16)</sup>, em 1969, demonstraram através da cromatografia do gel permeável, utilizando-se do Sephadex G100, a presença das frações 1, 2 e 3. Estas frações ficaram conhecidas por frações 1, 2 e 3 de **FIGORE**. Segundo o autor, as frações 2 e 3, são substâncias hidrossolúveis, com alto peso molecular(PM) encontradas na saliva dos não secretores, e, a fração 1 é encontrada na saliva dos secretores. A fração 1 tem PM entre 300.000 a 1.000.000, a fração 2 entre 10.000 a 13.000 e a fração 3 entre 1500 a 2000.

**KIND et. al.**<sup>(21)</sup>, em 1979, entretanto, utilizando-se da mesma metodologia descrita por **FIGORE et al.**<sup>(13)</sup> não conseguiu identificar as denominadas frações 2 e 3 descritas anteriormente.

**ROTHWEL**<sup>(33)</sup>, em 1979, comparando os resultados obtidos através dos testes de inibição da aglutinação e cromatográfico, verificou que nos testes de inibição os resultados são aqueles esperados, ou seja, demonstrou a existência de substâncias grupo-específicas ABH na saliva dos secretores e sua ausência na saliva dos não secretores. No exame cromatográfico, o autor identificou as frações 2 e 3 de **FIGORE et al.**<sup>(13,14,15,16)</sup>, entretanto, o autor não conseguiu estabelecer diferenças entre as frações 1, 2 e 3 de **FIGORE et al.**<sup>(13,14,15,16)</sup>.

**GRUBB**<sup>(19)</sup>, em 1948, demonstrou a íntima relação entre a característica secretora e o grupo sanguíneo de Lewis, estabelecendo que todo indivíduo portador do fenótipo Le(a-b+) é secretor das substâncias ABH. Enquanto que os indivíduos Le(a+b-) são não secretores de ABH.

Para a pesquisa das substâncias grupo-específicas na saliva, basicamente são empregados dois métodos. O primeiro denominado de análise quantitativa, tenta estabelecer a quantidade das substâncias ABH nas secreções. O segundo, denominado de análise qualitativa, demonstra apenas a presença ou ausência destas substâncias.

Uma das técnicas empregadas para a realização da análise quantitativa, são testes de inibição da hemaglutinação, descritos por BURON<sup>(5)</sup>, em 1960, e por ETCHEVERRY et al.<sup>(11)</sup>, em 1982.

Entretanto, quando o objetivo do trabalho é análise qualitativa, as técnicas empregadas são a inibição da hemaglutinação descritas por SCHIFF<sup>(35)</sup>, em 1940, BOYD & SHAPLEIGH<sup>(4)</sup>, em 1954, PALATINIK et al.<sup>(28)</sup>, em 1969, BEIGUELMAN<sup>(3)</sup>, em 1979, ARMANET et al.<sup>(2)</sup>, em 1982, ERIKSSON et al.<sup>(10)</sup>, em 1986 e EMERIBE et al.<sup>(9)</sup>, em 1992.

Recentemente YAZAWA & OHKAWARA<sup>(41)</sup>, em 1992, descreveram uma técnica, para a análise qualitativa das substâncias ABH da saliva, empregando-se micro esferas azuis em substituição a suspensão de hemácias.

Todavia, um trabalho que merece especial atenção é o de SAGISAKA et al.<sup>(34)</sup>, em 1983, onde os autores demonstraram que os antígenos ABH encontrados nas hemácias são sorologicamente, diferentes das substâncias grupo-específicas encontradas na saliva e demais secreções.

Basicamente, os testes de inibição da hemaglutinação se fundamentam em princípios imunológicos, ou seja, a aglutinação ou sua ausência é observada através do uso de antígenos e anticorpos. No caso específico dos sistemas sangüíneos, os termos empregados são aglutinógenos e aglutininas.

Desta forma, nos testes de inibição da hemaglutinação, quando se coloca em contato os aglutinógenos ou substâncias grupo-específicas da saliva juntamente com as aglutininas provenientes de soros ou reagentes comerciais, acontece uma aglutinação. Entretanto, devido a transparência da saliva, não é possível constatar tal aglutinação. As hemácias, então adicionadas, permitem que a presença ou ausência de aglutinação seja evidenciada. Portanto, podemos dizer, que as hemácias se portam como uma substância evidenciadora nas reações de inibição da aglutinação.

A saliva dos secretores, quando submetidas aos testes de inibição da hemaglutinação, demonstram ausência de aglutinação, uma vez que ao adicionarmos a suspensão de

hemácias, as reações entre as substâncias grupo-específicas da saliva com as aglutininas do soro ou reagentes comerciais já ocorreu. Enquanto que, na saliva dos não secretores a aglutinação pode ser constatada macroscopicamente, porque as aglutininas do soro ou reagentes comerciais, promoveram a aglutinação das hemácias correspondentes.

Alguns anticorpos de grupo sanguíneo ocorrem no soro de indivíduos sem que estes sejam previamente imunizados. Estes anticorpos são denominados de anticorpos naturais. Entretanto, algumas substâncias se comportam como aglutininas na evidenciação de antígenos ou aglutinógenos. Se estas substâncias pertecerem a outros seres humanos, são denominados de isoaglutininas. Entretanto, se pertencerem a outras espécies animais, são denominadas de heteroaglutininas.

Muitas vezes, a pesquisa dos antígenos das hemácias é feita com emprego de aglutininas presentes em extratos vegetais, as quais são denominadas de lectina. O termo fitoaglutinina é reservado para extratos vegetais que não possuem especificidade, ou seja, aglutinam as hemácias independentemente do antígeno que apresentem.

Os trabalhos de **BOYD & SHAPLEIGH**<sup>(4)</sup>, em 1954, nos fornecem uma valiosa contribuição quando nos referimos ao estudo das substâncias grupo-específicas. Os autores, estudando os diversos reagentes anti-H, empregados na época demonstraram que devido à facilidade de obtenção e especificidade nas reações de aglutinação, a lectina extraída da planta *Ulex europaeus*, se mostra como um excelente reagente anti-H.

Como podemos observar, o estudo das substâncias grupo-específicas é de fundamental importância em Hematologia, Genética, Imunologia, Medicina-legal, Antropologia e outras disciplinas correlatas. Poucos são os Cirurgiões-Dentistas que se preocupam com este estudo.

Entretanto, o **CONSELHO FEDERAL DE ODONTOLOGIA (C.F.O.)**<sup>(7)</sup>, em 1993, estabeleceu na Consolidação das normas para procedimentos nos Conselhos de Odontologia, aprovado pela resolução CFO-185/93, na seção IV, artigo 55 que a perícia em vestígios correlatos, inclusive

manchas ou líquidos oriundos da cavidade bucal ou nela presentes, entre outras atribuições é de competência do especialista em Odontologia Legal. Esta atribuição é que nos estimulou ao estudo das substâncias grupo-específicas na saliva humana.

**CAPÍTULO 2**  
**REVISTA DA LITERATURA**



## 2 - REVISTA DA LITERATURA

Ao realizarmos o levantamento bibliográfico sobre as substâncias grupo-específicas da saliva, verificamos que a maioria dos trabalhos consultados eram de procedência internacional. Entretanto encontramos algumas indicações doutrinárias de procedência nacional, as quais foram utilizadas como referência no presente trabalho.

**SCHIFF**<sup>(35)</sup>, em 1940, estudou a frequência do fator secretor, com o objetivo antropológico de estabelecer diferenças raciais. Nesse estudo o autor utiliza três grupos raciais, sendo o primeiro composto por 367 negros residentes em Nova Iorque, o segundo composto por 117 brancos também de Nova Iorque e o terceiro composto por 363 brancos de Berlim, Alemanha. A técnica empregada foi a inibição da aglutinação, utilizando-se saliva, hemácias e anti-soros humanos. Inicialmente, todos os doadores tiveram o seu grupo sanguíneo determinado, no sistema ABO, sendo excluídos do exame individual, aqueles pertencentes ao grupo O. Tal fato se deu devido à dificuldade de serem obtidos reagentes anti-O que fornecessem reações confiáveis. A saliva coletada, de 1 a 2 cc, foi imediatamente examinada ou conservada em formalina a 0,1%, para exame posterior. Após a coleta, o autor analisou a amostra de saliva em três diluições: 1:10, 1:100 e 1:1000. O diluente empregado foi o soro fisiológico. Os soros humanos empregados foram previamente titulados contra as hemácias correspondentes, e utilizou-se a série anterior que forneceu uma reação forte. O soro foi então adicionado à saliva e mantido em "caixas geladas" durante a noite. No dia seguinte, foram adicionados as células vermelhas correspondentes que permaneceram incubadas por 10 minutos à temperatura ambiente. Feito isto, procedeu-se a leitura. A ausência de aglutinação nas três séries de diluições caracterizou o secretor. Os seguintes resultados foram observados: o maior percentual de secretores, 82,4%, ocorreu nos brancos de Nova Iorque, e o menor, 61,2%, nos negros de Nova Iorque. O percentual de secretores nos brancos de Berlim foi de 78%. Baseado nesses resultados, o autor verificou que as diferenças encontradas entre brancos e negros

são estatisticamente significantes. Não foram observadas diferenças significativas entre os brancos de Nova Iorque e os de Berlim. Para a análise estatística foram utilizados o teste do quiquadrado e o fator de correção de Yates. Concluindo, o autor verificou que os pares de genes que determinam o tipo secretor ocorrem em frequências diferentes em várias populações, não tendo meios de afirmar se os resultados alcançados tipificam todas as populações de brancos e negros.

**ANDRESEN<sup>(1)</sup>**, em 1947, descreveu o soro anti-Lewis, e demonstrou que o fator Lewis é caracterizado por um par de genes alelomórficos ( L e l ) e que os possíveis genótipos para o fator Lewis seriam LL, Ll, ll. Nesse estudo, o autor observou que o soro anti-Lewis aglutinava as hemácias de 21% dos adultos e 70% das hemácias pertencentes às crianças com idade abaixo de sete anos. O autor concluiu que nas pessoas adultas o anti-Lewis aglutina somente homozigotos dominantes (LL), e em crianças a aglutinação também se dá em heterozigotos (Ll).

**GRUBB<sup>(19)</sup>**, em 1948, fez um estudo comparando o grupo sanguíneo de Lewis e o caráter secretor. Sessenta e duas amostras de saliva e sangue foram analisadas através de soros anti-Lewis e testes de inibição da aglutinação. Vinte das amostras estudadas eram portadoras do fenótipo Lewis positivo, e quarenta e duas, portadoras do fenótipo Lewis negativo. Todas as amostras Lewis positivo pertenciam a não secretores e das quarenta e duas amostras Lewis negativo, quarenta e uma foram oriundas de secretor. Para confirmar tais resultados, o autor realizou testes de inibição da aglutinação utilizando, saliva, hemácias e reagentes. Para se determinar as características secretoras e não secretoras nos indivíduos dos grupos A, B e AB foram utilizados os reagentes anti-A e anti-B. Na determinação das características secretoras e não secretoras de indivíduos do grupo O, três testes foram realizados. O primeiro deles foi realizado com anticorpos obtidos pela imunização de coelhos com substâncias purificadas provenientes de cistos de ovários removidos de secretores do grupo O. O segundo, com o soro de *Anguilla vulgaris* e o terceiro, com soro de uma galinha imunizada com suspensões de

*Shigella shiga*. Dessa forma, o autor constatou íntima relação entre o grupo sanguíneo de Lewis e o caráter secretor.

**GRUBB**<sup>(20)</sup>, em 1951, estudou 1000 indivíduos, estabelecendo a correlação precisa entre o grupo sanguíneo de Lewis e o caráter secretor. Em seu estudo, constatou que todos os indivíduos Le(a+b-) eram não secretores e todos os indivíduos Le(a-b+) eram secretores. Segundo o autor, as duas observações anteriores não apresentam. Constatou ainda que a maioria dos indivíduos Le(a-b-) são secretores de ABH.

**BOYD & SHAPLEIGH**<sup>(4)</sup>, em 1954, realizaram um estudo com lectina extraída da semente da planta *Ulex europaeus*, para observação de secretores e não secretores do grupo O. No referido trabalho, os autores analisam a eficiência desta lectina, comparando seus resultados com os resultados obtidos na reação de isoaglutinação com soro anti-H extraído de enguias - *Anguilla vulgaris*. Vinte e cinco amostras de saliva foram testadas, sendo 22 amostras de secretores e 3 amostras de não secretores dos grupos sanguíneos O, A1, A2, B e AB. O extrato de sementes de *Ulex europaeus* foi preparado pelos pesquisadores, através da moagem, filtragem e centrifugações sucessivas, mantendo uma concentração de 0.9% em solução salina. Após o preparo, a lectina foi armazenada em freezer e descongelada para o seu uso. Os testes de inibição da hemaglutinação foram realizados usando-se 0,05 ml de extrato de *Ulex europaeus* não diluídos, 0,05 ml da saliva desnaturada, purificada e não diluída e 0,05 ml de hemácias do grupo O a 1% em soro fisiológico. Independente do grupo sanguíneo A, B ou O, em todos os testes foram utilizadas hemácias O. Os resultados apresentados, mostraram que: 1) O uso da lectina extraída da *Ulex europeus* é viável para determinar as características secretoras ou não secretoras, desde que, se utilize a lectina e a saliva não diluídas; 2) O preparo do extrato de *Ulex europaeus* é mais simples e de fácil obtenção em relação aos anti-soros usados até então com tal finalidade; 3) É possível determinar se o indivíduo é ou não secretor usando apenas a lectina e hemácias O. Com tais achados os autores descobriram uma nova forma de determinar as características secretoras,

através de um processo simples e eficiente, introduzindo o extrato de *Ulex europaeus* na determinação de secretores e não secretores.

McNEIL et al.<sup>(26)</sup>, em 1957, realizaram um trabalho para verificar as secreções aberrantes das substâncias ABH na saliva. Foram testadas, amostras de saliva e sangue doadas por presidiários do Centro Penitenciário de Utah e pacientes do Hospital de Closse Holy. Para determinar a secreção de A e B na saliva os autores utilizaram as aglutininas anti-A e anti-B de doadores aparentemente saudáveis, e que forneciam uma reação 4+. Para a determinação da secreção de H, os autores utilizaram-se de extrato salino de sementes de *Lotus tetragonolobus*. Para confirmar os resultados de H, os autores utilizam ainda de uma heteroaglutinina anti-H extraída de enguias. Todos os reagentes foram titulados, e o último 4+ indicou a diluição. A saliva foi desnaturada através de banho-maria por quinze minutos, e posteriormente centrifugada sendo o sobrenadante recolhido para a realização dos testes. Os testes foram realizados na seguinte seqüência: 1) Misturou-se a saliva previamente preparada com os reagentes anti-A, anti-B e anti-H, incubando essa mistura durante 30 minutos, à temperatura ambiente; 2) A essa mistura foi adicionado uma suspensão de hemácias a 10%, por 10 minutos. Na realização dos testes, foram utilizados 10 tubos de ensaio e verificado o poder de inibição das aglutinógenos da saliva. O tubo número um possuía uma diluição de 1:2, e o último tubo uma diluição de 1:1024. Segundo os resultados obtidos na "titulação da saliva", os secretores e não secretores foram classificados em quatro grupo distintos, a saber: 1) Não secretores - aqueles que possuíam uma falha de inibição ou título entre 0 e 1:4; 2) Secretores - aqueles que apresentavam título de 1:64 ou mais; 3) Secretores parciais - aqueles em que o título variava entre 1:4 e 1:32; 4) Secretores aberrantes - aqueles que secretavam uma substância com título de 1:64 ou mais além de uma outra substância com título de 1:4 ou menos. Dos 100 prisioneiros presidiários analisados, 75 foram secretores, 19 não secretores e 6 deles se portaram como secretores aberrantes. Com esses resultados somados a outros pesquisados pelos próprios autores,

concluíram que a secreção aberrante é um fato que deve ser considerado. Os autores questionaram ainda o modelo genético aceito de **SCHIFF e SASAKI**<sup>(36,37)</sup>, onde o gene Se seria o responsável pelo caráter secretor de ABH na saliva. Segundo os autores, as secreções aberrantes poderiam estar relacionadas a duas hipóteses. A primeira atribuída a falhas nos genes penetrantes ou expressão dos genes reduzidas enquanto que a segunda indicou a supressão de um gene para uma determinada geração. Cabe observar que a maioria dos casos de secreção aberrante acontecia com os indivíduos A2, entretanto, os autores consideraram que o número de secretores aberrantes desse estudo foi pequeno para alcançar resultados mais conclusivos.

**BURON**<sup>(5)</sup>, em 1960, realizou testes de inibição da aglutinação com amostras de saliva e sangue, em tubos de ensaio. O autor analisou o título dos anti-soros A e B, e a diluição máxima da saliva visando se realizar a iso-aglutinação. No presente trabalho o autor realizou testes de inibição da hemaglutinação somente com hemácias e saliva dos grupos A e B. Os anti-soros naturais foram titulados de maneira convencional, observando as diluições de 1/2 a 1/256. Para as amostras de saliva, o autor realizou diluições com soro fisiológico a 1/1, 1/10, 1/100, 1/1000 e 1/10000. Segundo o autor, o título adequado para o soro anti-A foi de 1/32 e para o soro anti-B foi de 1/8. A diluição máxima para os testes de iso-aglutinação seria de 1/1000. Nesse trabalho, o autor confirmou os resultados de **SCHIFF**<sup>(36,37)</sup>, da presença de dois grupos distintos com relação a secreção de substâncias grupo-específicas na saliva: os secretores (Se) e os não secretores(se), e ainda, citou a importância destas características nos problemas de hereditariedade nos casos de exclusão de paternidade.

**FERREIRA**<sup>(12)</sup>, em 1962, descreveu em seu livro uma técnica para evidenciação das substâncias grupo-específicas na saliva. Esta técnica foi desenvolvida por **FERREIRA E NOVAH** e consiste na realização de testes de inibição da hemaglutinação utilizando-se de tubos capilares e vidros de relógio. Nesse trabalho, os autores recomendaram o uso de anti-soros naturais

anti-A e anti-B, titulados a 1/64 e 1/32 respectivamente, e, saliva diluída a 1/10 para os grupos A e B. A diluição recomendada pelos autores para saliva dos doadores do grupo O seria de 1/5. **FERREIRA**<sup>(12)</sup> demonstrou ainda a possibilidade de se detectar substâncias grupo-específicas em manchas de tecidos. Os fragmentos de tecidos manchados seriam picotados em pequenas partes e colocados em vidros de relógio. Estes fragmentos eram então levados para o interior de tubos de ensaio e embebidos em água destilada, onde com auxílio de um bastão de vidro eram espremidos contra as paredes do tubo de ensaio. A seguir uma "bomba de água" era colocada no interior do tubo onde permanecia por 10 minutos. A partir daí, o material era incubado por 10 minutos em temperatura ambiente e 10 minutos em geladeira. O líquido do tecido manchado foi removido e se procedeu os testes. O autor demonstrou ainda que o uso da técnica em papéis de cigarro e envelopes não pode ser recomendada, pois os resultados são falseados. Quando a saliva vier acompanhada de sangue ou hemácias a técnica também é contra-indicada.

**PHANSOMBOOM**<sup>(32)</sup>, em 1968, fez um breve relato da distribuição das aglutininas anti-A e anti-B na saliva das pessoas de Thai. Duzentas e sessenta amostras de saliva e sangue foram retiradas de indivíduos normais, masculinos e femininos, com idades de 13 a 35 anos. Nesse estudo, o autor observou que a presença de aglutininas na saliva não depende somente do grupo sangüíneo, mas também do título e natureza sorológica das aglutininas serosas correspondentes.

**PALATINIK et al.**<sup>(28)</sup>, em 1969, realizaram um estudo de secreção salivar ABH e fluxo de genes em crianças brasileiras brancas e negras, estudantes de várias escolas primárias de Porto Alegre. Foram testadas 424 crianças negras e 267 brancas, com idades de 6, 9 e 12 anos, divididas igualmente entre os sexos. Para o referido estudo, os autores dividiram a amostra em quatro grupos raciais, observando as características de cada grupo de acordo com a cor e tipo dos cabelos, formato dos lábios e coloração da pele. Assim sendo, os grupos ficaram divididos da

seguinte forma: negros, mulatos escuros, mulatos claros e brancos. A saliva foi coletada em tubos estéreis, e posteriormente, imersa ao banho-maria por 20 minutos. Seguindo o processo, a mesma foi centrifugada, e o sobrenadante armazenado à temperatura de 22 graus celsius negativos. O método empregado foi denominado de método de dois tubos-teste, utilizando-se saliva não diluída e saliva diluída a 50%. Para a realização dos testes, além da saliva, os autores utilizaram suspensão de hemácias O, A<sub>2</sub> e B e anti-soros A e B. Para os testes de H utilizou-se a lectina anti-H de *Ulex Europaeus*. As leituras foram checadas macroscópica e microscopicamente. Os autores, realizaram ainda um estudo quantitativo, e observaram a presença de secretores anômalos. Baseando-se na classificação adotada por McNEIL et al.<sup>(26)</sup>, 1957, o grupo dos anômalos foi dividido em secretores parciais (título entre 1/4 e 1/32 - baixa quantidade secretora de ABH) e secretores aberrantes (secreção observada ao nível de 1/64 ou mais, ou, 1/4 ou menos). Os resultados apresentados em percentuais de não secretores foram os seguintes: negros, 22,4%; mulatos escuros, 15,2%; mulatos claros 18,4% e brancos, 14,2%. De toda amostra estudada, somente quatro indivíduos se portaram como secretores anômalos, sendo que três destes foram classificados como secretores aberrantes, e apenas um como secretor parcial. Segundo os autores, para a obtenção de resultados satisfatórios, certos cuidados devem ser tomados, a saber: 1) A quantidade e qualidade dos anti-soros usados; 2) De preferência, devem ser usadas células A<sub>2</sub>, provenientes de poucos doadores; 3) Deve ser usada saliva não diluída, e diluída a 50% ; 4) Os estudos macroscópicos devem ser seguidos por estudos microscópicos, e, 5) Estudos qualitativos devem ser acompanhados de estudos quantitativos.

ROTHWELL<sup>(33)</sup>, em 1979, realizou um estudo com as substâncias grupo-específicas da saliva. O autor utilizou-se das técnicas de absorção/inibição (A/I) e absorção/eluição (A/E), comparando os resultados obtidos. Vinte amostras de saliva dos grupos A, B e O, pertencentes a secretores e não secretores foram analisadas. Nos testes de absorção/inibição, além da saliva, foram utilizados reagentes anti-A, anti-B e anti-H, e suspensão de

hemácias correspondentes. Já os testes de absorção/eluição (A/E), foram desenvolvidos de acordo com a técnica proposta por **FIGLIORE et al.**<sup>(13,14,15,16)</sup>, utilizando de Sephadex G100 superfino. Para ambos os testes, foram atribuídos uma escala de gradação de 0 a 4. Os resultados foram comparados através de gráficos. Os testes apresentaram os seguintes resultados: 1) Nos testes de absorção/inibição os resultados se portaram como esperado, ou seja, foi demonstrada a presença de substâncias A, B e H na saliva dos secretores, e sua ausência na saliva dos não secretores; 2) Nos testes de absorção/eluição (A/E), a saliva dos não secretores mostrou a presença de substâncias de alto peso molecular, semelhantes ao resultado obtido frente aos secretores. O autor não conseguiu determinar se a substância grupo-específica dos secretores era diferente da substância grupo-específica dos não secretores, conforme resultados observados nos testes de absorção/eluição (A/E).

**KIND et al.**<sup>(21)</sup>, em 1979, realizaram um trabalho, objetivando verificar o polimorfismo molecular das substâncias ABH na saliva humana, e constatar a veracidade da hipótese proposta por **FIGLIORE et al.**<sup>(13)</sup>. A metodologia empregada foi a cromatografia de gel permeável usando sephadex G100 e G200. Vários testes com a saliva de secretores e não secretores foram realizados, com o objetivo de identificar as frações 1, 2 e 3 de **FIGLIORE**. Entretanto, foi constatada a presença da fração 1 de **FIGLIORE** (PM = 300.000-1.000.000) na saliva dos secretores, e sua ausência na saliva dos não secretores. Apesar de todas as tentativas, os autores não conseguiram identificar as frações 2 (PM = 10.000-13.000) e 3 (PM = 1.500-2000), descritas anteriormente por **FIGLIORE**.

**BEIGUELMAN**<sup>(3)</sup>, em 1979, descreveu em seu livro, uma técnica para investigação do fenótipo secretor de substâncias grupo-específicas ABH na saliva humana. Estimulando a salivação com parafina, o autor colheu cerca de 1 ml de saliva em um pequeno copo de Becker, de doadores adultos. No caso de crianças pequenas, o autor recomendou que a saliva fosse colhida com auxílio de chumaços de algodão.



Posteriormente, o algodão embebido com a saliva da criança, foram espremidos contra as paredes de um tubo de ensaio e diluídos em 0,5 ml de solução salina. Logo depois de obtida a saliva, ou no máximo, uma hora após a coleta, a amostra foi transferida para um tubo de ensaio e mantida por 10 minutos em banho-maria em ebulição. Essa operação é destinada à desnaturação das enzimas que possam atuar sobre as substâncias grupo-específicas eventualmente existentes na saliva. O tubo foi então, centrifugado durante 3 minutos a 3.000 rpm, para sedimentar o muco e os restos celulares, transferindo-se o sobrenadante para outro tubo de ensaio. Tal sobrenadante pode ser examinado imediatamente ou mantido em congelador a 20 graus celsius negativos, para exame posterior. Para a pesquisa do fenótipo secretor, o autor utilizou duas séries de tubos de ensaio (10 x 75 mm). Em uma delas, os tubos foram identificados por 1-A, 1-B e 1-H, e na outra, por 2-A, 2-B e 2-H. Nas duas séries, foi pipetada uma gota de anti-soro anti-A nos tubos A, uma gota de anti-soro anti-B nos tubos B, e, uma gota de lectina anti-H de *Ulex europaeus* nos tubo H. Tais anti-soros foram titulados previamente contra suspensões de hemácias salinas de hemácias A<sub>2</sub>, B e O a 5%. Para tanto, foi necessário fazer uma série de dez diluições, e utilizar a diluição precedente aquela que provocou uma aglutinação forte (+4) das hemácias com o antígeno correspondente. Depois de pipetados os anti-soros, foram acrescentados nos tubos da série 1 uma gota de saliva para exame, e nos tubos da série 2, uma gota de solução salina. Depois de agitados e mantidos à temperatura ambiente por 15 minutos, acrescentou-se a suspensão salina de hemácias a 5% nos tubos correspondentes. Os tubos foram agitados e mantidos em repouso por uma hora à temperatura ambiente. No tubos da série 2, sempre ocorreu aglutinação, pois constituem os tubos controle. Nos tubos da série 1, a ausência de aglutinação indicou a presença de substâncias grupo-específicas correspondentes a cada tubo. Nesse caso, a substância grupo-específica reagiu com o anticorpo, esgotando-o do meio, e impedindo que ele atuasse sobre os antígenos das hemácias. O autor, citou ainda, o valor

médico-legal e genético-antropológico da investigação das substâncias grupo-específicas.

**ORIOI et al.** <sup>(27)</sup>, em 1.981, sugeriram um novo modelo genético para explicar a relação entre os genes H e Se. Quarenta e quatro publicações de amostras de Bombaim (h/h), foram analisadas. Nesse estudo, os autores, através de análises estatísticas, testaram as duas hipóteses. A primeira hipótese, aceita até então, demonstrava que o gene Se era classicamente um gene regulador para o controle da expressão do gene H em secreções externas. Segundo esta hipótese, todos os indivíduos portadores do fenótipo de Bombaim, portar-se-iam como não secretores. A segunda hipótese, sugerida pelos autores, demonstrava o contrário: os genes Se e H seriam distintos, entretanto muito próximos, e que não existia nenhuma supressão fenotípica de Se em h/h. A hipótese dos referidos autores foi corroborada por um relato datando de 1965, no qual três irmãos não manifestavam as substâncias A, B e H em suas células sangüíneas, embora tais substâncias estivessem presentes na saliva.

**ETCHEVERRY et al.** <sup>(11)</sup>, em 1982, fizeram uma análise metodológica na determinação do caráter secretor ABH na saliva. Foram investigados 104 indígenas de Toba, Argentina, dos quais 103 pertencentes ao grupo O, e um ao grupo A1, todos adultos, sendo 40 homens e 64 mulheres. Para a análise quantitativa foram utilizados os gradientes S1 e S2, para posterior comparação com outras publicações. S1 representou o título de inibição parcial, ou seja, a diluição final da saliva que inibe totalmente a reação, em leitura macroscópica. S2 representou o título de inibição total, ou seja, a diluição final da saliva anterior a uma ótima aglutinação. Foi realizada a análise estatística através de um programa de computador, para determinar o coeficiente de variação. Para o estudo da reprodutividade, uma mesma amostra de saliva foi analisada 10 vezes, e como resultado obteve-se o coeficiente de variação de 18% para S1, 12% para S2. Com a finalidade de conhecer o tempo de conservação da amostra sobre o título de inibição, a saliva de

cada um dos indivíduos foi analisada ao longo de seis meses com os mesmos reativos. Foi obtido o coeficiente de variação de 23% para S1, e, 16% para S2. Os autores concluíram que o método quantitativo empregado forneceu resultados satisfatórios, quando foram utilizados os gradientes S2.

ARMANET et al. <sup>(2)</sup>, em 1982, realizaram um estudo para determinar a frequência de secretores e não secretores na população chilena. No referido trabalho os autores utilizaram-se de 500 amostras de sangue e saliva provenientes de doadores do Hospital Universitário J.J. Aguirre. As amostras foram coletadas no período compreendido entre novembro de 1981 e janeiro de 1982. Para a realização dos testes de aglutinação, foram empregados soros anti-A e anti-B preparados nos laboratórios da Cruz Vermelha Chilena, extratos de *Ulex europaeus*, preparados no próprio hospital, e, glóbulos vermelhos frescos dos tipos O, A<sub>1</sub> e B em suspensão salina de 2 a 5%. Para a realização dos testes foram necessários dois mililitros de saliva de cada doador. A saliva foi coletada em tubos estéreis, e posteriormente levada ao banho-maria por 10 minutos para a inativação das proteínas salivares. Após o resfriamento, as amostras foram centrifugadas durante 10 minutos, a 4000 rpm. O sobrenadante foi removido e armazenado a vinte graus celsius negativos, até a sua utilização. Para a realização dos testes, os autores colocaram um volume de saliva diluída a 50% em soro fisiológico em contato com um volume do anti-soro correspondente, durante 10 minutos, à temperatura ambiente. Seguindo-se o teste, acrescentaram um volume de suspensão de hemácias entre 2 e 5% nos tubos de ensaio correspondentes. A ausência de hemaglutinação indicou que o indivíduo era secretor, e a presença de hemaglutinação indicou que o indivíduo era não secretor. Os resultados apresentados foram os seguintes: 83,8% das amostras testadas pertenciam a indivíduos secretores, e 16,2% a não secretores. Segundo os autores, não foram observadas diferenças estatísticas entre os sexos.

GERARD et al. <sup>(18)</sup>, em 1982, realizaram um minucioso estudo em indivíduos portadores do fenótipo de

Bombaim (h/h), originários da Ilha de Reunion, a sudeste da África. Nesse trabalho, o autor analisou os pedigrees de quatorze famílias, verificando a veracidade dos modelos genéticos propostos, na segregação dos genes Se e H. Quatorze mapas genéticos de Bombaim foram analisados, sendo que 85%, pertenciam a leucodermas. As pessoas foram divididas em dois grupos sendo um constituído por indivíduos de Bombaim, e o outro, por indivíduos não afetados. Os indivíduos foram considerados Bombaim quando, na realização de testes, foi notada a ausência do antígeno H nos eritrócitos, e presença de anti-H nos soros. Três diferentes métodos foram usados na determinação do caráter secretor ABH, na saliva. O primeiro teste foi realizado nas hemácias com os reagentes de Lewis. Os indivíduos foram considerados secretores quando o genótipo de Lewis evidenciou Le(a-b+), e não secretores, quando Le(a+b-). O fenótipo secretor de Le(a-b-), foi analisado na saliva. O segundo teste foi realizado pelo método da inibição da hemaglutinação, usando-se hemácias e saliva em diluição de 10 a 50%. Por último, foi realizado o radioimunoteste, com reagentes preparados pela Universidade de Alberta, Edmonton, Canadá. O resultado dos três testes, segundo os autores, revelaram compatibilidade. Os autores após identificar o caráter secretor e fenótipo de Bombaim, fizeram um minucioso estudo dos hederogramas e analisaram duas hipóteses, relacionando os genes estruturais H e Se. Na primeira hipótese, o gene Se foi completamente expressado em indivíduos Bombaim, existindo portanto, secretores e não secretores de Bombaim. Na segunda hipótese, a expressão fenotípica de Se foi suprimida em não secretores de Bombaim, entretanto, seus genótipos secretores poderiam ser Se/Se, Se/se ou se/se. Todos os indivíduos de Bombaim foram não secretores, de acordo com as duas hipóteses testadas. Somente um caso descrito na literatura, em 1955, respalda a segunda hipótese, ao apresentar uma criança secretora, filha de não secretor X Bombaim. Entretanto, os autores concordaram que o modelo genético mais viável seria o proposto por **ORIOLE et al.**<sup>(27)</sup> (1981), segundo o qual, Se e H seriam genes estruturais proximamente ligados. Com base nesse trabalho, os autores demonstraram que a área de Cilaos, na África, poderia ser

a que possuía o maior número de pessoas com o fenótipo de Bombaim, à época da realização do trabalho.

SAGISAKA et al. <sup>(34)</sup>, em 1983, propuseram a distinção sorológica entre o antígeno H da saliva e o antígeno H da membrana dos eritrócitos, com objetivo pericial. Nesse trabalho, os autores utilizaram células do grupo sanguíneo O e saliva de secretores do grupo O, para imunizar coelhos e preparar anti-soros anti-H. Dois grupos de três coelhos raros foram imunizados. O primeiro grupo foi imunizado por via intravenosa, com uma suspensão de hemácias O a 10%. O segundo grupo foi imunizado por via intramuscular, com saliva de secretor do grupo O. Em ambos os grupos a imunização foi ministrada três vezes por semana, durante cinco semanas. Dez dias após a última imunização, os dois grupos foram sacrificados, sendo recolhidos os anti-soros crus. Os anti-soros, após o processo de preparação foram denominados de anti-Hr e anti-Hs. Amostras de sangue, saliva e outros líquidos orgânicos removidos de cadáveres foram testados com os anti-soros anti-Hr, anti-Hs e anti-H. Após a realização dos testes, os autores observaram que o anti-Hr fornecia reações positivas somente com eritrócitos, não reagindo com a saliva e demais líquidos orgânicos. O anti-Hs proporcionou reações positivas com todos os líquidos orgânicos, com exceção do líquido cérebro-espinhal, urina e hemácias. O anti-H (extrato de *Ulex europaeus*) reagiu com as hemácias, saliva e demais líquidos orgânicos, exceto o líquido cérebro-espinhal e urina, fornecendo reações semelhante ao anti-Hs. Dessa forma, os autores concluíram que um método para diferenciar manchas de sangue dos demais líquidos orgânicos, inclusive saliva, na prática pericial, seria o uso de anticorpos específicos obtidos através da imunização de coelhos. O anti-Hs seria usado para detectar saliva e demais líquidos orgânicos, e o anti-Hr para detectar manchas de sangue. No uso do anti-Hr, para testar hemácias do grupo ABO, os autores observaram que as aglutinações eram mais intensas com o grupo O, de média intensidade com os grupos A e B, e não ocorriam no grupo AB. Face aos resultados obtidos, os experimentos realizados constituíram uma nova técnica a ser utilizada na prática pericial, visando a diferenciação de manchas.

**DUBE et al.**<sup>(8)</sup>, em 1984, realizaram um estudo com o objetivo de verificar a correlação entre as hemaglutininas frias, o caráter secretor, grupo ABO e sexo. Todos os fatores foram determinados em adultos normais, sendo 241 do sexo masculino e 305 do sexo feminino, utilizando-se as técnicas e reagentes convencionais. Para verificar a presença de hemaglutininas frias, os autores utilizaram-se das células vermelhas do grupo O a uma temperatura de quatro graus celsius. A coleta destas células se deu sem o uso de anti-coagulantes, que poderiam alterar os resultados. Para a análise da saliva, foram utilizados os procedimentos convencionais, ou seja, coleta, desnaturação e centrifugação. O sobrenadante foi mantido a setenta graus celsius negativos. Os indivíduos Le(a-b+), que não possuíam substância H em sua saliva, foram considerados secretores, e os indivíduos Le(a+b-), considerados não secretores. Diversos testes estatísticos foram aplicados, sendo observado que os níveis de aglutininas frias apresentavam-se mais elevados em secretores. Com relação ao sistema ABO, foi verificado nos grupos B e O, que gradientes mais elevados foram encontrados no sexo feminino. Esses resultados sugeriram que os níveis de aglutininas frias, provavelmente IgM, poderia estar relacionado diretamente com o grupo ABO, estado secretor e sexo.

**ERIKSSON et al.**<sup>(10)</sup>, em 1986, fizeram um trabalho analisando o polimorfismo de secreção de ABH em várias populações. Nesse trabalho, o autor verificou a frequência de não secretores na população estudada, o relacionamento desse fator com a ocorrência de determinadas doenças, e a relação do caráter secretor com o grupo sanguíneo de Lewis. No decorrer de dez anos, indígenas de várias regiões foram estudados, a saber: islandeses, insulanos, finlandeses, lapões do sul, komi e esquimós da Groelândia. Para determinar o caráter secretor de ABH, os autores utilizaram da técnica de inibição da hemaglutinação, usando reagentes anti-A, anti-B e anti-H, associados a saliva e uma suspensão de hemácias a 10%. A saliva foi coletada sem estimulação, após o que, foi desnaturada por vinte minutos em água fervente, e armazenada até a realização dos testes a vinte

graus celsius negativos. Os testes foram realizados pelo mesmo pesquisador, e a seguinte metodologia foi adotada: 1) descongelamento da saliva; 2) diluição do sobrenadante a 1/1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 e 1/32; 3) adição de extrato de *Ulex europaeus* padronizado, incubado por 10 minutos à temperatura ambiente; 4) adição da suspensão de hemácias O a 10%, diluída em solução salina, incubada por 30 minutos; 5) centrifugação dos tubos e anotação dos resultados. Foi observada a estimativa de concentração, ou seja, a capacidade de inibição da substância H em cada amostra salivar. Além da substância anti-H (*Ulex europaeus*), foram utilizadas ainda anti-A, anti-B e outras fitoaglutininas (*Laburnum alpicum* e *Cytisus sessilifolius*), ajustadas através da titulação de seus poderes aglutinantes. Após a realização dos testes com anti-A e anti-B, os resultados foram comparados com o grupo sanguíneo ABO. Os secretores aberrantes foram classificados como secretores. A frequência mais alta encontrada se deu entre os islandeses (28-35%), e a mais baixa entre os lapões (5%). A grande maioria dos não secretores foram Le(a+b-). Foi observada ainda uma tendência de úlcera péptica e doenças pulmonares nos não secretores, embora tal fato não pudesse ser confirmado somente com os resultados alcançados.

EMERIBE et al.<sup>(9)</sup>, 1992, fizeram um estudo da secreção de ABH da saliva, no município de Calabar. 176 amostras de saliva e sangue foram examinadas. Os doadores foram agrupados em quatro grupos para estudo, sendo que 31,3% eram estudantes universitários, 34,4% doadores sanguíneos, 22,7% crianças e 21% não se enquadravam nas opções anteriores. Quanto à idade, os doadores foram classificados em três grupos distintos: crianças até 15 anos, adultos jovens de 16 a 25 anos, e adultos de 26 a 60 anos. Para o exame da saliva, foi usado o teste da inibição da hemaglutinação. Dois mililitros de saliva foram coletados, e posteriormente, no prazo máximo de duas horas, inativados em vapor de água quente por 10 minutos. Dois mililitros de sangue foram coletados por punção venosa e armazenados em tubos de ensaio. Os reagentes anti-A e anti-B usados na reação foram os de uso comercial, fabricados pela

BIOTEST, Alemanha, e o anti-H, preparado pela DIAMED, Suíça. Nas amostras estudadas, os resultados revelaram que 153 doadores (86,9%) foram secretores de ABH na saliva, e 23 doadores (13,1%) foram não secretores. Os autores não observaram relação entre o caráter secretor e a idade e o sexo, entretanto, observaram que o maior número de não secretores pertencia ao grupo sanguíneo A, e que o maior número de secretores era heterozigotos. As frequências encontradas para os genes *Se* e *se* foram respectivamente 0,6390 e 0,3610. Uma baixa prevalência de não secretores (13,1%) foi encontrada, quando comparada com estudos de outros autores.

**YAZAWA & OHKAWARA**<sup>(41)</sup>, em 1992, descreveram um método simples e de grande acuidade para determinar os antígenos ABH nas secreções. Os autores recomendaram o uso de micro esferas azuis com diâmetro de 2,2 micrometros, confeccionadas com um polímero acrílico, para identificação de secretores e não secretores, em substituição à suspensão de hemácias usada nas técnicas convencionais. Utilizando-se de reagentes monoclonais anti-A, anti-B e anti-H, juntamente com saliva e as micro esferas, os autores conseguiram identificar secretores e não secretores, após reações efetuadas em tubos capilares. A técnica proposta dispensou o uso de suspensão de hemácias, permitindo ao pesquisador identificar a aglutinação na saliva, apesar da invisibilidade dos antígenos. Além disso, permitiu a análise da saliva sob o ponto de vista quantitativo.



**CAPÍTULO 3**  
**PROPOSIÇÕES**

### 3 - PROPOSIÇÕES

3.1 - Determinar o percentual de secretores, não secretores e secretores aberrantes em amostra populacional composta por leucodermas, utilizando-se de testes de inibição da hemaglutinação, através de uma análise qualitativa.

3.2 - Verificar a correlação entre a característica secretora e o sexo.

3.3 - Verificar a correlação entre a característica secretora e idade.

3.4 - Determinar o grupo sanguíneo do sistema ABO, nos indivíduos classificados como secretores.

3.5 - Determinar a temperatura e o período de tempo que as amostras de saliva podem ser conservadas sem que percam sua capacidade de inibição.

**CAPÍTULO 4**  
**MATERIAIS E MÉTODOS**

#### 4 - MATERIAIS E MÉTODOS

Para a realização do presente trabalho, duzentas amostras de saliva foram utilizadas, obtidas de indivíduos leucodermas, de ambos os sexos e de diferentes faixas etárias. A amostra foi composta por doadores voluntários e por alunos dos cursos de Odontologia da Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas - MG e alunos do curso de Odontologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba (UNICAMP) - Piracicaba - S.P.

A amostra constitui-se apenas de indivíduos leucodermas, para se evitar outros fatores étnicos que poderiam influenciar nos nossos resultados

Os critérios de seleção dos indivíduos foram os seguintes:

- 1 - coloração da pele;
- 2 - cor e forma dos cabelos;
- 3 - formato dos lábios;
- 4 - e o grau de descendência dos indivíduos analisados.

A saliva dos indivíduos que não preencheram estes requisitos, não foram incluídas no exame e a saliva de descendentes em primeiro ou segundo grau de grupos étnicos definidos, também não foram analisadas.

Devido a dificuldade de se obter todas as amostras de uma só vez, as mesmas foram divididas em lotes. A saliva coletada era identificada inicialmente com uma letra, que correspondia ao lote e concomitantemente com um número que correspondia ao doador. As amostras foram agrupadas em lotes com objetivo de facilitar o estudo e identificação.

As amostras foram coletadas no período correspondente a abril de 1.993 a junho de 1.994. As mesmas foram então divididas em quatro lotes e cada lote continha 50 amostras. Esta forma de identificação nos permitiu verificar a forma de estocagem da saliva após o processo de desnaturação.

Devido às constantes modificações bioquímicas do material examinado, a coleta foi devidamente padronizada. Todas as amostras foram coletadas no período da manhã, com o indivíduo em "jejum". Nos doadores "fumantes", a coleta foi

feita sem que este tivesse feito uso do cigarro, no dia da coleta. Optamos, pela coleta sem estimulação.

Em todos os casos era necessário conhecer o grupo sanguíneo do sistema ABO do doador. Como a maioria dos doadores eram estudantes universitários, não tivemos maiores problemas. Entretanto quando o doador não conhecia seu grupo sanguíneo, do sistema ABO, este era determinado por nós, através da prova direta.

A prova direta consiste em se colocar as hemácias do doador em contato com os reagentes anti-A e anti-B. Pode ser feita em tubos de ensaio, lâminas ou em placa de acrílico. A presença de aglutinação em A, B ou AB, indica o respectivo grupo sanguíneo A, B e AB. Entretanto a ausência de aglutinação indica que o sangue examinado pertence ao grupo O.

Utilizamos de uma ficha para identificação dos doadores. Esta ficha continha as informações básicas de cada doador e foi idealizada anteriormente ao início da coleta. Todas as informações importantes do doador, foram devidamente preenchidas nesta ficha, conforme pode ser observado na ficha nº. 1.

**Ficha nº. 1 - Ficha de identificação do paciente e coleta de dados**

Nome do doador:

Idade:

Sexo: ( ) masc. ( ) fem.

Profissão:

Endereço:

Cidade:

Estado:

Telefone:

**Questionário**

1 - Estaria disposto a participar de uma pesquisa doando 2 ml de saliva ?

( ) sim ( ) não

2 - Coloração da pele:

( ) Leucoderma ( ) Xantoderma ( ) Melanoderma ( ) Outras

3 - Você sabe a qual grupo sanguíneo pertence?

( ) Sim ( ) Não

4 - Se sabe, qual é ?

( ) A ( ) B ( ) AB ( ) O.

5 - Qual o grupo nacionalidade de seus pais e avós ?

( ) Brasileira ( ) outras

6 - É fumante ?

( ) Sim ( ) Não

7 - Número para controle:

8 - Lote da amostra:

9 - Classificação:

( ) Secretor ( ) Não secretor ( ) Secretor aberrante

10 - O grupo sanguíneo foi determinado por nós ?

( ) Sim ( ) Não

11 - Esta tomando algum medicamento ?

( ) Sim ( ) Não

12 - Possui alguma doença ?

( ) sim ( ) não

13 - Se possui qual é ?

14 - observações:

Fernando Luiz de Souza.

Mestrado em Odontologia Legal e Deontologia.

FOP - UNICAMP.

#### 4.1 - COLETA, DESNATURAÇÃO E ARMAZENAMENTO DA SALIVA.

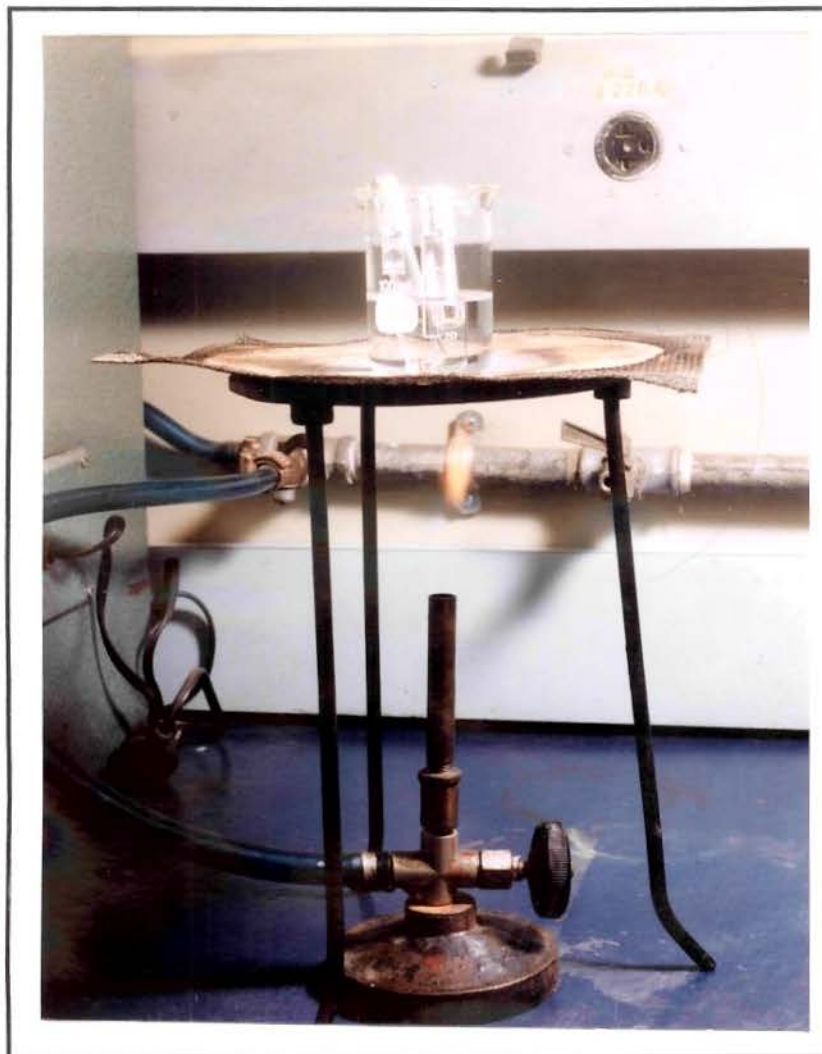
Após o preenchimento da ficha de identificação e coleta de dados, o passo seguinte foi a coleta da saliva, observando-se todas as precauções descritas anteriormente. A saliva foi coletada em copos plásticos descartáveis. O processo de coleta, foi feito de uma forma espontânea, sem estimulação, até que se completasse um volume de 2 ml, o que dependia do grau de salivação de cada um. Quem possuía uma salivação mais intensa terminava o processo mais rápido.

No caso de crianças muito pequenas a coleta foi efetuada com auxílio de pequenos chumaços de algodão os quais, depois de embebidos com saliva, foram espremidos com auxílio de uma pinça contra as paredes de um tubo de ensaio.

O copo descartável, contendo a saliva doada, recebia o número para identificação, que correspondia ao número da ficha preenchida anteriormente. Para anotação destes números utilizamos de uma caneta especial, usada para elaboração de transparências. Esta caneta é conhecida comumente como caneta para retro projetor. Com esta, todas as vidrarias correspondentes ao doador recebiam o mesmo número.

A saliva era então, imediatamente transferida para um tubo de ensaio (10 X 75 mm). O tubo era devidamente lacrado com folha de papel alumínio e posteriormente levado ao processo de desnaturação.

A desnaturação foi feita imediatamente após a coleta para se evitar a interferência de enzimas no processo de inibição. Para a realização do processo de desnaturação utilizamos de um bico de busen, um tripé, uma tela de amianto e de um erlemeyer graduado contendo água. A água foi aquecida até se obter a temperatura de 100° C. Nesta temperatura, a saliva foi então imersa e o processo de desnaturação acontecia por vinte minutos, em banho maria, conforme demonstra a foto nº 1.



**FOTO nº 1 - DESNATURAÇÃO DA SALIVA**

Imediatamente após o resfriamento da saliva, o tubo de ensaio era levado à centrífuga que sofria um processo de centrifugação durante cinco minutos, em alta rotação, isto é a 2.400 rpm. Este processo é necessário para separar impurezas contidas na saliva, conforme foto nº 2.





FOTO nº 2 - CENTRIFUGAÇÃO DA SALIVA.

Feito isto, o sobrenadante era recolhido em um outro vidro estéril, numerado, e armazenado em geladeira até a realização dos testes, conforme foto nº 3 e nº 4.

Optamos pelo uso da saliva diluída em soro fisiológico, na proporção de 50%.



FOTO nº 3 - ARMAZENAMENTO DA AMOSTRA APÓS O PROCESSO  
DE DESNATURAÇÃO.



**FOTO nº 4 - MATERIAIS UTILIZADOS NA REAÇÃO DE INIBIÇÃO DA HEMAGLUTINAÇÃO**

#### **4.2 - PREPARO DA SUSPENSÃO DE HEMÁCIAS.**

Para realização dos testes de inibição da hemaglutinação, foram utilizadas hemácias frescas e que nos forneciam reações visíveis a olho nú, ou seja hemácias +2, +3 ou +4 segundo a classificação das reações de aglutinação descrita por **BEIGUELMAN**<sup>(3)</sup>. Devido a dificuldade de se obter estas hemácias, diariamente, contamos com a colaboração do Hemocentro de Piracicaba, S.P. , que gentilmente forneceu-nos estas hemácias, na realização da pesquisa.

Utilizamos as hemácias A1, B e O, as quais foram submetidas ao exame sorológico prévio. Para detectarmos a presença das substâncias grupo-específicas A e B, utilizamos uma suspensão de hemácias a 5%. E, para detectarmos a presença da substância H, utilizamos uma suspensão a 2%. Ambas preparadas com NaCl a 0,09%. A diferença de concentração dessas suspensões se deu devido à aversez dos reagentes empregados e indicações do fabricante.

#### **4.3 - REAGENTES**

Para efetuarmos a inibição da hemaglutinação, optamos pelo uso de reagentes comerciais, devido a facilidade de obtenção, manuseio e

confiabilidade. Na compra dos reagentes, observamos o prazo de validade e o lote de fabricação. Sempre utilizamos o mesmo lote para realização de todos os testes.

Utilizamos então 3 reagentes convencionais fabricados pela BIOTEST S/A indústria e comércio. Utilizamos de dois anticorpos monoclonais murino (anti-A e anti-B) indicados para reações em tubos e em lâmina e de uma lectina anti-H indicada para reações em meio salino (extrato de *Ulex europaeus*). O anti-A empregado pertencia ao lote 4E18, o anti-B ao lote SE1A e o anti-H ( extrato de *Ulex europaeus* ) ao lote 12T1C. A data de fabricação, validade, maneira de conservação e uso foram estabelecidos segundo as instruções do fabricante.

Os reagentes anti-A e anti-B eram indicados para reações em tubos e em lâminas, fornecendo desta forma reações mais rápidas. Entretanto, o anti-H utilizado, fornecia apenas reações em tubos em meio salino. Por isso, optamos pela realização dos testes em duas etapas. Na primeira, verificamos a presença das substâncias A e B na saliva e na segunda verificamos a presença da substância H.

#### **4.4 - REAÇÃO DOS TESTES DE INIBIÇÃO DA HEMAGLUTINAÇÃO ATRAVÉS DA ANÁLISE QUALITATIVA.**

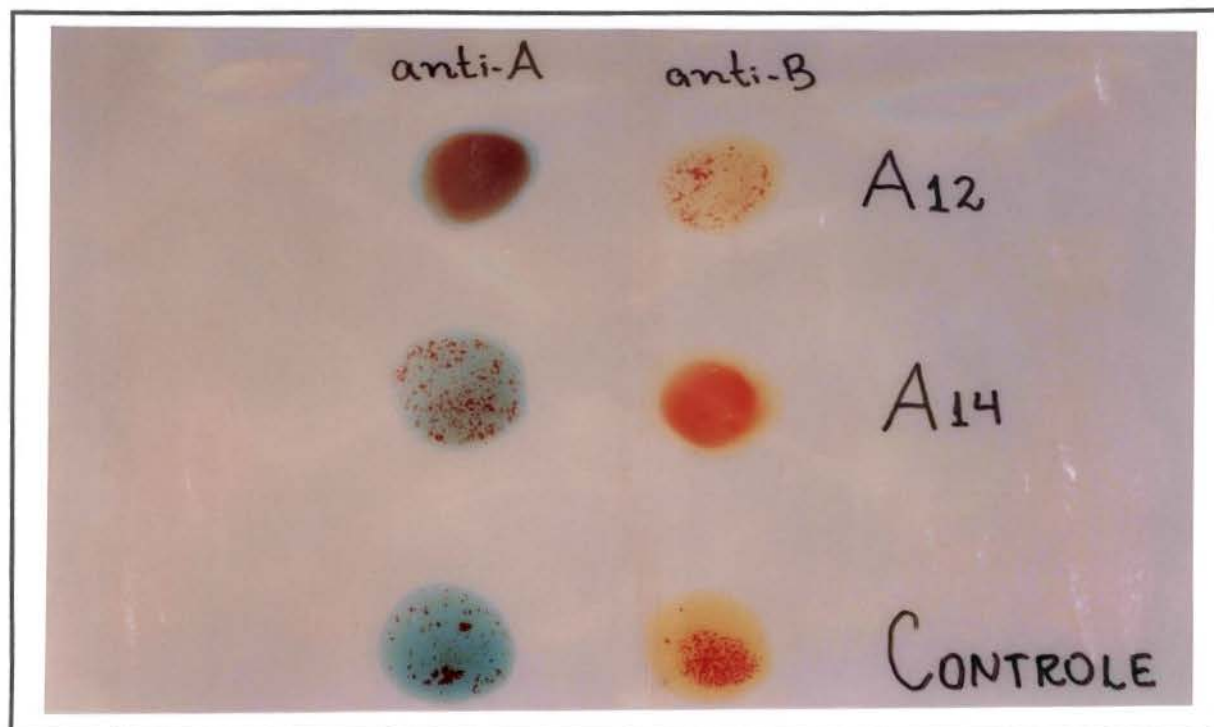
Existem diferentes formas de se analisar as características secretoras na saliva. Entretanto, no presente trabalho realizamos somente a análise qualitativa. Esta análise nos permite identificar secretores, não secretores e secretores aberrantes, dentro daquilo que foi proposto.

Para se determinar as características secretoras de ABH na saliva, empregamos a técnica de inibição da hemaglutinação. Neste procedimento são necessários saliva, suspensão de hemácias e reagentes comerciais, conforme foto nº 3.

Como já foi descrito anteriormente preferimos identificar as substâncias secretadas em duas etapas, devido à diferença de avidéz dos reagentes empregados.

Na primeira etapa identificamos as substâncias A e B e na segunda etapa a substância H. Os testes de inibição da hemaglutinação para identificação das substâncias A e B foram realizados em um placa de acrílico leitosa, de 35 por 25 cm, conforme técnica utilizada no centro de estudos hematológicos do hemonúcleo de Piracicaba. Preferimos o emprego desta técnica, pela simplicidade, confiabilidade e facilidade na leitura dos resultados, conforme foto nº 5.





**FOTO nº 5 - REAÇÃO DE INIBIÇÃO DA HEMAGLUTINAÇÃO EM PLACA DE ACRÍLICO LEITOSA E GRUPO CONTROLE POSITIVO.**

Além das vantagens já citadas, a placa de acrílico nos permite, ainda, realizar vários testes e ao mesmo tempo realizarmos o controle positivo. Dessa forma, em cada placa, é possível efetuar, ao mesmo tempo, quatro testes de inibição, seguidos ao controle positivo.

Analizando a descrição anterior observamos que cada doador era identificado concomitantemente com uma letra e um número. De posse das amostras, a placa foi dividida com uma linha imaginária em quatro partes no sentido horizontal, e em cada parte colocamos o número correspondente ao doador, utilizando a caneta para retroprojektor. Dessa forma, evitamos o risco de induzir os resultados, pois estes somente foram comparados com os grupos sanguíneos do sistema ABO após a realização dos testes de inibição.

Adotamos dois algarismos romanos para identificar os passos da reação. O algarismo número I, servia para identificar a reação de inibição da hemaglutinação e o algarismo número II servia para identificar a reação de controle positivo. A placa foi então dividida, no sentido vertical, em quatro partes, pois para cada doador verificamos a presença das substâncias A e B e efetuamos os controles positivos de A e B. Para identificarmos cada reação, os algarismos

romanos foram transcritos para o canto superior da placa de acrílico, seguido das letras A e B que identificava o reagente usado.

Além da placa de acrílico, amostras de saliva, soro fisiológico e reagentes, utilizamos ainda uma pipeta automática com capacidade para 50 microlitros e ponteiras descartáveis de 50 e de 100 microlitros. O uso desta pipeta, nos permitiu padronizar o volume de saliva, hemácias e reagentes utilizados.

Como já foi descrito, as amostras de saliva foram agrupadas em lotes, identificados com letras maiúsculas. Cada lote possuía 50 amostras. Dessa forma, o critério que adotamos para evitar falsas interpretações nos resultados foi examinar o lote de saliva (50 amostras), usando sempre a mesma suspensão de hemácias. Devido a instabilidade das hemácias após o preparo da suspensão, os testes de inibição da hemaglutinação foram realizados no mesmo dia, ou seja, para cada lote de saliva examinado, utilizamos a mesma suspensão de hemácias.

#### **4.5 - TÉCNICA EMPREGADA**

Com o auxílio da pipeta automática, distribuímos o reagente anti-A nos vários pontos pré-determinados na placa de acrílico. Duas gotas do reagente, foram colocados nas células IA e IIA da placa. O mesmo procedimento foi adotado com relação ao anti-B. Imediatamente após, colocamos duas gotas de saliva em contato com os anticorpos, correspondentes as células IA e IB. Nas células IIA e IIB, colocamos duas gotas de soro fisiológico a 0,09%, para controle. Com o fundo de um tubo de ensaio procedemos a mistura individualizada de cada célula e aguardamos 15 minutos. Esta incubação se deu à temperatura ambiente.

Decorrido este período, duas gotas de suspensão de hemácias foram adicionadas à mistura. As hemácias A colocadas nas células IA e IIA e as hemácias B colocadas nas células IB e IIB. Novamente o material é homogeneizado com auxílio de um tubo de ensaio. A mistura é incubada por 10 minutos. Depois desse tempo, a placa de acrílico é erguida e através de um processo de rotação manual, inicia-se o processo de evidenciação dos resultados. Após dois minutos, todas as reações são visíveis, macroscopicamente, conforme foto nº 5.

Os resultados foram transcritos para a tabela 2, a fim de facilitar a interpretação dos mesmos. Cada amostra é catalogada individualmente.

**Tabela 2 - Tabela para transcrição dos resultados:**

Número do doador: \_\_\_\_\_

Lote da amostra: \_\_\_\_\_

Data do exame : \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

| IA | IB | IH |
|----|----|----|
|    |    |    |

Resultados

| IIA | IIB | IIH |
|-----|-----|-----|
|     |     |     |

Controle positivo

Em seguida, passamos a analisar a secreção da substância H. Para detectarmos a presença ou ausência de substância H na saliva, optamos pelo uso de tubos de ensaio, segundo recomendação do fabricante. Esta variação se deu, devido a menor avidéz do anti-H (Extrato de *Ulex europaeus*), quando comparada a avidéz dos reagentes anti-A e anti-B.

Para cada amostra de saliva utilizamos dois tubos de ensaio de 10 X 75 mm. O primeiro tubo foi identificado como IH e o segundo como IIH. Da mesma forma, o tubo IH era destinado à reação e o tubo IIH destinado ao controle positivo.

O processo foi feito de uma maneira similar à descrita anteriormente, ou seja, no tubo IH, colocamos a lectina anti-H em contato com a saliva do doador, com uma posterior homogeneização da mistura. Após 30 minutos de incubação, à temperatura ambiente adicionamos a suspensão de hemácias O e homogeneizamos a mistura novamente, através da agitação manual. No tubo número II, no lugar da saliva, colocamos soro fisiológico e o tempo de incubação e homogeneização foram devidamente observados.

Essa mistura, feita anteriormente, ficou incubada por mais quinze minutos e após este período os dois tubos foram então levados à centrífuga, onde sofreram uma centrifugação por quinze segundos em baixa rotação, 800 rpm. Feito isto os resultados são observados e transcritos para a tabela 2.

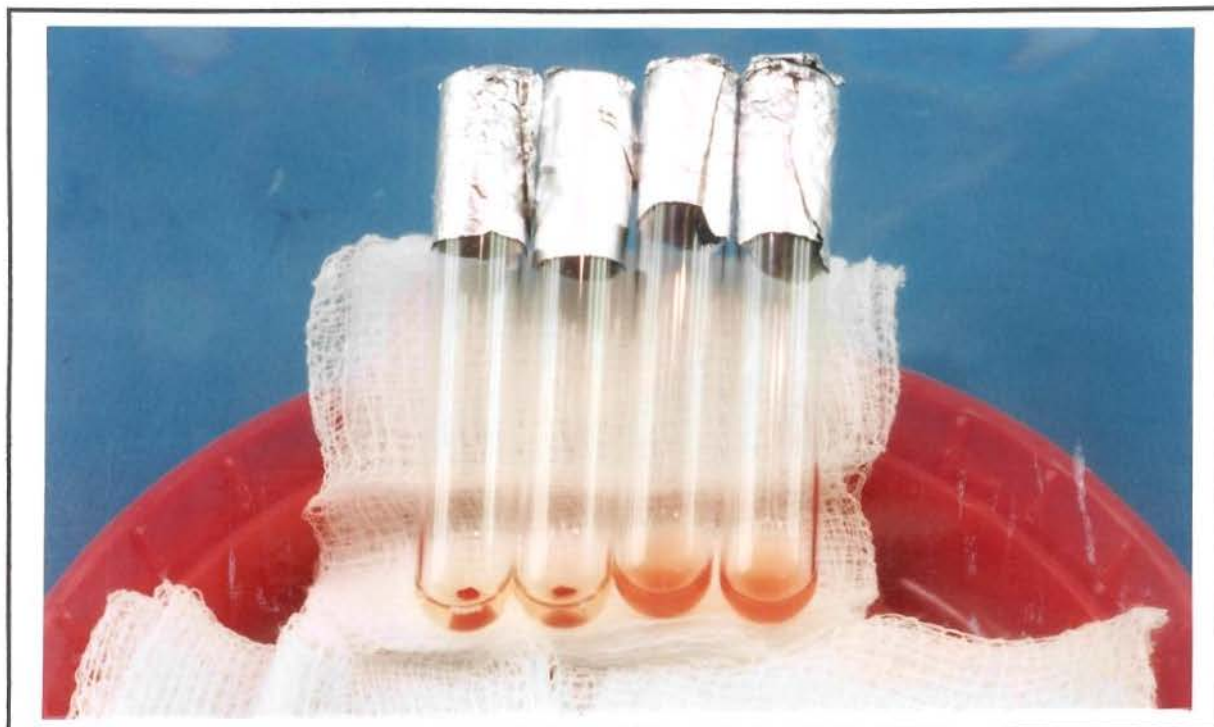
Em todos os casos, quando surgia dúvidas quanto ao resultado obtido, os testes eram refeitos desde o início, ou seja, o doador era novamente convocado e uma nova amostra coletada.

A presença de aglutinação pode ser evidenciada macroscopicamente, independente do reagente empregado. A única diferença existente está no local onde a aglutinação ocorre. Nos casos da placa de acrílico, onde se dá a aglutinação, forma-se grumos de hemácias, que são facilmente identificados. Nos tubos, quando isto acontece, no lugar de grumos, observamos um botão de hemácias, conforme demonstra as fotos nº 6 e 7.



**FOTO nº 6 - LEITURA DOS TUBOS DE ENSAIO.**





**FOTO nº 7 - PRESENÇA DO BOTÃO DE HEMÁCIAS -  
CARACTERÍSTICA ENCONTRADA NA SALIVA DOS NÃO  
SECRETORES**

Para determinar o estado secretor de um indivíduo, basta observar os resultados catalogados na tabela 2, ou seja, a ausência de aglutinação em I ( reação de inibição da hemaglutinação ) indica que o indivíduo é secretor daquela substância onde ocorreu a ausência de aglutinação. Dessa forma, se em um determinado doador verificamos a ausência de aglutinação em IA, IB e IH, podemos dizer que este indivíduo é secretor das substâncias A, B e H. Isto pode ser facilmente explicado, pelo processo de inibição da hemaglutinação empregado. As aglutininas contidas nos reagentes, absorvem os aglutinogênios da saliva, deixando o meio saturado. Ao adicionarmos o mesmo volume de hemácias, a aglutinação não poderá ser observada, uma vez que, não existe mais aglutininas livres para reagir com os aglutinogênios das hemácias.

O oposto acontece com os não secretores. Nesse caso, toda vez que observarmos a presença de aglutinação, podemos afirmar que o doador não é secretor para a determinada substância. Este fato, está preso ao mesmo princípio descrito anteriormente. Os não secretores não possuem aglutinogênios. Dessa forma, quando adicionamos a suspensão de hemácias, as

aglutininas do reagente reagem com os aglutinogênios das hemácias, tornando visível a aglutinação.

Segundo a literatura, é possível determinar o grupo sanguíneo ABO na saliva dos secretores. Devido a este fato, os resultados obtidos, foram posteriormente comparados com os resultados previamente cadastrados na tabela 1. Quando ocorria uma discordância nesses resultados, o doador era novamente convocado para que se realizasse um segundo exame de sangue e saliva.

Com objetivo de verificar o tempo que cada amostra poderia ser armazenado, o lote D, o primeiro a ser coletado, a cada três meses, era novamente examinado, seguindo-se os mesmos passos descritos anteriormente.

Quando o controle positivo não apresentava aglutinação, os resultados eram descartados e todo processo refeito.

**CAPÍTULO 5**  
**RESULTADOS**

## 5 - RESULTADOS

Com o objetivo de se verificar as características secretoras em ambos os sexos e em diferentes faixas etárias, idealizamos quatro tabelas para permitir a sumarização dos dados obtidos. Nestas tabelas, temos um sistema alfanumérico que nos permite identificar os doadores. Cada tabela contém as seguintes informações: iniciais de cada doador, sexo, característica secretora, grupo sanguíneo e idade. Para cada lote analisado, temos uma tabela correspondente. A divisão da tabela em lotes nos permite verificar os resultados de acordo com a data de realização dos testes de inibição da hemaglutinação. Assim temos quatro lotes distintos, sendo identificados como A, B, C e D, e quatro tabelas, 1,2,3 e 4. Veja Apêndice, Capítulo 10.

Com o objetivo de se verificar o tempo de conservação das amostras após o processo de desnaturação, a capacidade de inibição e a temperatura de armazenamento, as salivas dos indivíduos secretores, foram guardadas em geladeira e foram realizados testes em épocas diferentes, isto é, aos 3, 6, 9 e 14 meses, conforme demonstrado na tabela 5. Veja Apêndice, Capítulo 10.

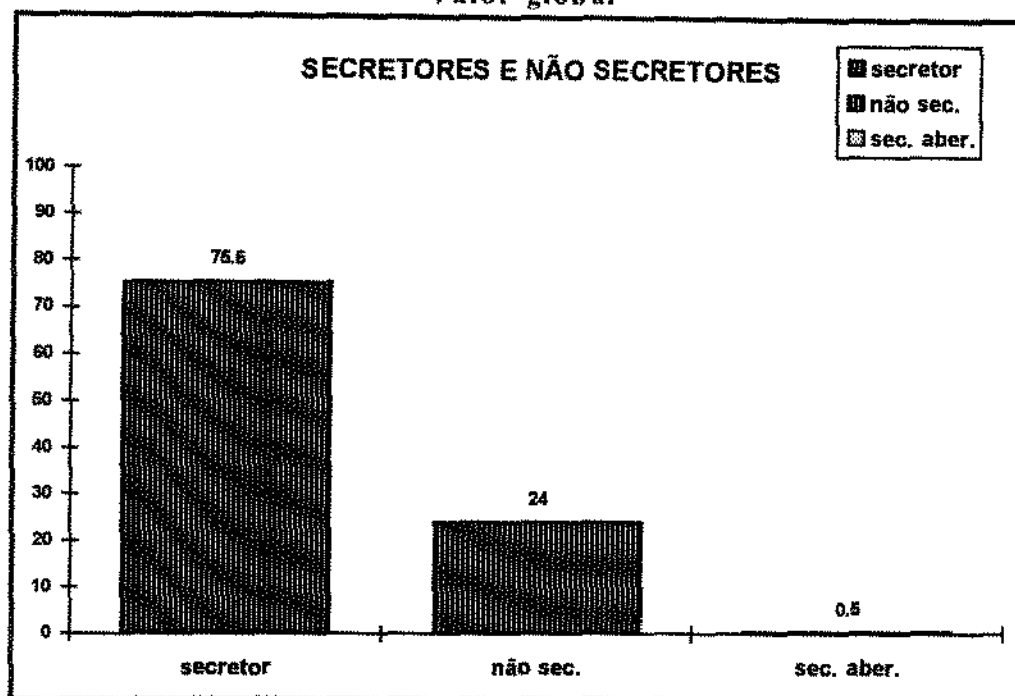
Através dos testes de inibição da hemaglutinação os resultados serão apresentados levando-se em consideração a característica secretora em toda amostra, o comportamento dessa característica em ambos os sexos, nas diferentes idades, nos diferentes grupos sanguíneos do sistema ABO e ainda a secreção da substância H.

Assim sendo, os resultados serão apresentados de acordo com a natureza dos testes realizados:

6.1 - quanto a característica secretora, verificamos que das 200 amostras de saliva analisadas obtivemos 151 secretores, 48 não secretores e 01 secretor aberrante. Estes resultados nos fornecem um percentual global de 75,5% de secretores, 24% de não secretores e 0,5% de secretores aberrantes, conforme demonstrado no gráfico 1.

**GRÁFICO 1 - PERCENTUAL DE SECRETORES, NÃO SECRETORES E SECRETORES ABERRANTES.**

Valor global

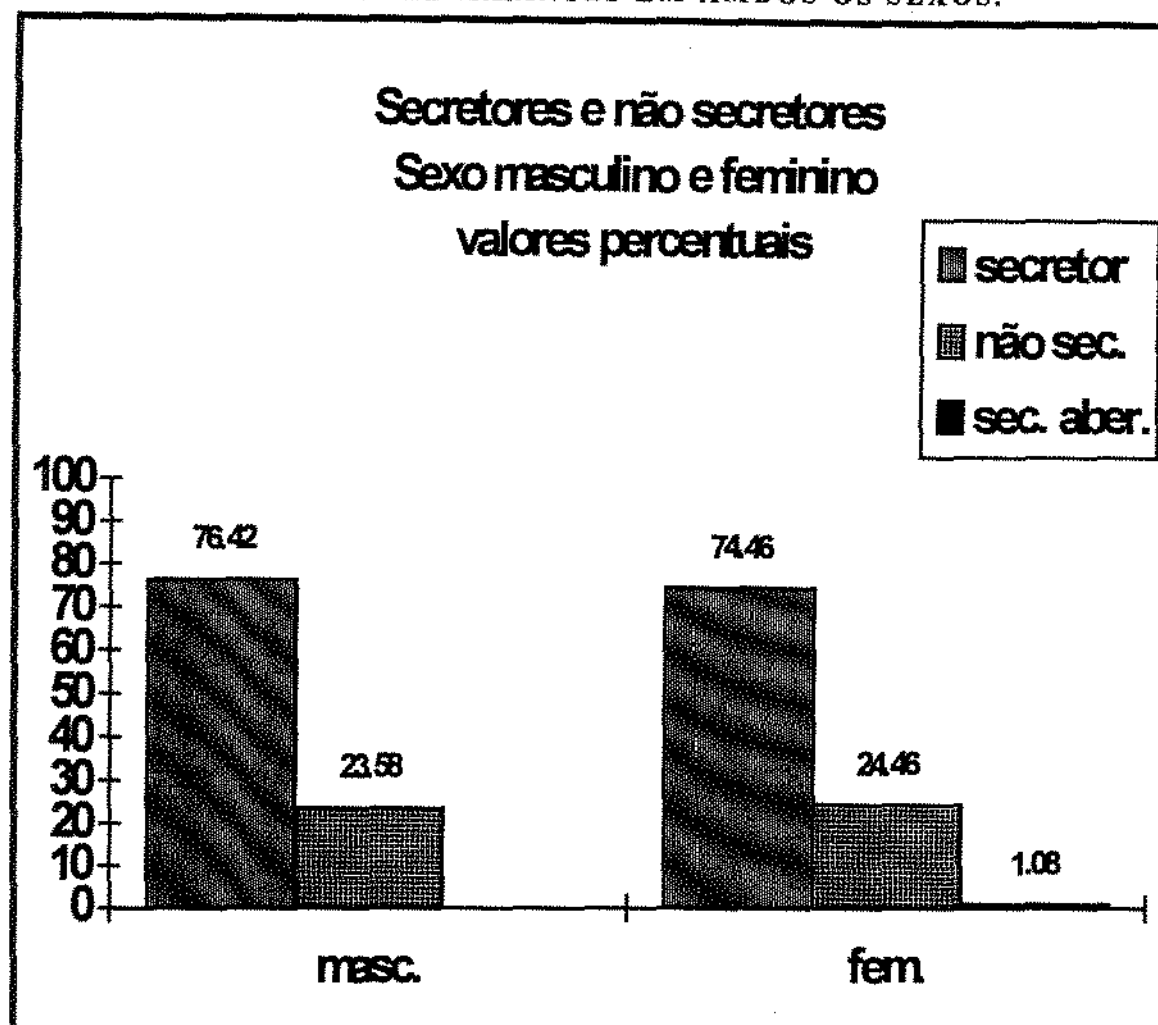


6.2 - Quanto a característica secretora em ambos os sexos, verificamos que das 106 amostras de saliva procedentes de indivíduos do sexo masculino 81 se apresentaram secretores das substâncias ABH e 25 não secretores não apresentando tais substâncias, indicando-nos um percentual de 76,42% de indivíduos secretores e 23,58% de indivíduos não secretores. Não foram encontrados secretores aberrantes no sexo masculino.

6.3 - Quanto ao sexo feminino, das 94 amostras de saliva, 70 se apresentaram secretores das substâncias ABH, 23 se apresentaram não secretores, sem a presença dessas substâncias e apenas uma única amostra se apresentou como secretor aberrante. Estes dados nos indicam um percentual de 74,46% de secretores, 24,46% de não secretores e 1,08% de secretores aberrantes.

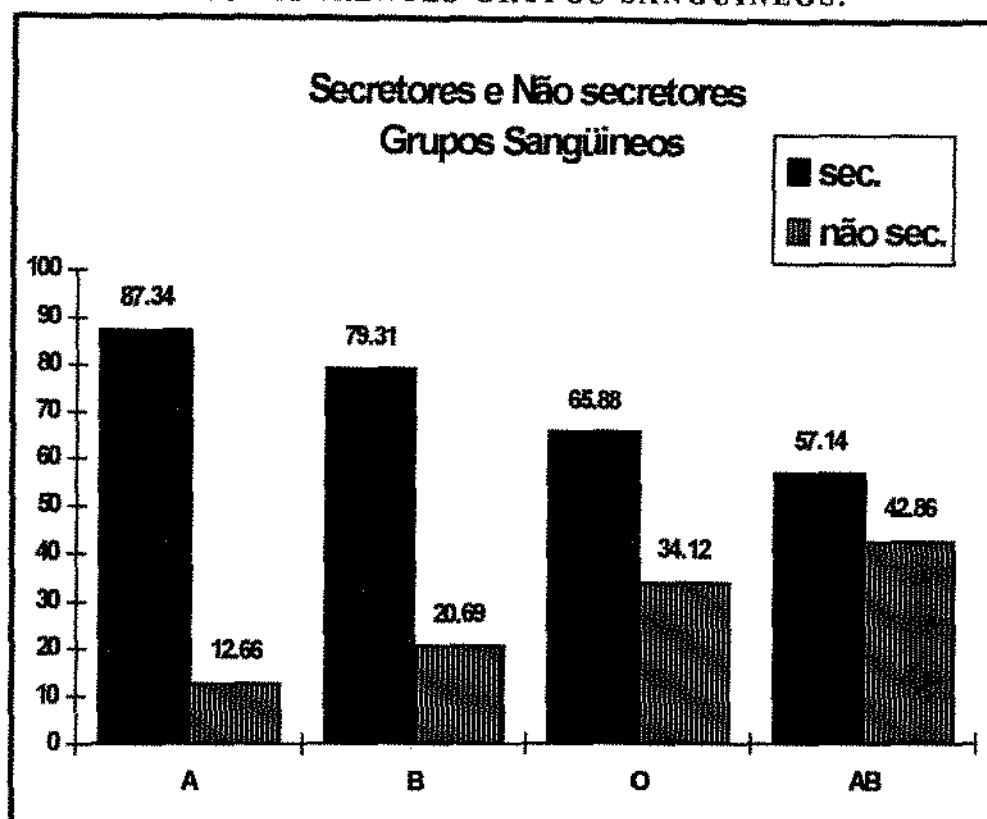
6.4 - Comparando-se os percentuais de secretores e não secretores obtidos em ambos os sexos podemos afirmar que não existe diferenças relevantes nas características secretoras e não secretoras entre o sexo masculino e feminino, conforme podemos observar no gráfico 2.

**GRÁFICO 2 - PERCENTUAL DE SECRETORES, NÃO SECRETORES E SECRETORES ABERRANTES EM AMBOS OS SEXOS.**



6.5 - Quanto à característica secretora nos grupos sanguíneos do sistema ABO verificamos que o maior índice de secretores foi observado nos indivíduos portadores de sangue do tipo A, isto é, com um percentual de 87,34%; enquanto que o menor índice de secretores foi observado nos indivíduos portadores do grupo AB, com um percentual de 52,14%, conforme demonstrado no gráfico 3.

**GRÁFICO 3 - PERCENTUAL DE SECRETORES E NÃO SECRETORES NOS DIFERENTES GRUPOS SANGÜÍNEOS.**



6.6 - Quanto ao comportamento da substância H, verificamos que:

6.6.1 - A substância H esta presente na saliva de todos os indivíduos secretores, inclusive na saliva do secretor aberrante.

6.6.2 - Pela técnica empregada, não verificamos a presença de nenhuma substância grupo-específica na saliva dos indivíduos não secretores.

6.6.3 - Além da substância H, foram observadas a presença de substâncias grupo-específicas A e B nos indivíduos pertencentes aos grupos sangüíneos A, B e AB.

6.6.4 - No indivíduo classificado como secretor aberrante, embora pertencente ao grupo sangüíneo A, foi encontrado apenas a substância H.

6.7 - Todas as amostras da série II (controle positivo), nos forneceram resultados positivos.

6.8 - As amostras de saliva conservadas em recipientes fechados, em geladeira, à temperatura de 0 °C a 10 °C, não sofreram nenhuma

alteração na sua capacidade de inibição, no período observado de 14 meses.



**CAPÍTULO 6**  
**DISCUSSÃO**

## 6 - DISCUSSÃO

Vários são os métodos empregados para determinar a presença ou ausência das substâncias grupo-específicas na saliva humana. A maioria dos autores como **SCHIFF**<sup>(35)</sup>, **GRUBB**<sup>(19)</sup>, **BOYD & SHAPLEIG**<sup>(4)</sup> e outros pesquisadores demonstraram eficiência dos Testes de Inibição da Aglutinação, quando o objetivo é verificar a frequência de secretores e não secretores em uma determinada amostra populacional.

Entretanto, alguns autores não concordam com esta metodologia e indicam o uso de outros métodos. **PALATINIK et al.**<sup>(28)</sup> recomendaram a análise qualitativa, desde que, posteriormente seja efetuada a análise quantitativa. **KIND et al.**<sup>(21)</sup>, demonstraram a presença de substâncias grupo-específicas na saliva humana utilizando-se da cromatografia em gel permeável. **ROTHWELL**<sup>(33)</sup>, comparou a eficiência entre duas técnicas empregadas, e demonstrou que a cromatografia em gel permeável não deve ser indicada para o estudo da frequência de secretores e não secretores. Neste estudo, o autor demonstrou ainda a presença de substâncias hidrossolúveis de alto peso molecular na saliva de não secretores.

**GERARD et al.**<sup>(18)</sup>, recomendou a pesquisa do grupo sanguíneo de Lewis para determinar a frequência de secretores e não secretores em indivíduos portadores do fenótipo de Bombaim.

Em relação a metodologia empregada, concordamos com **SCHIFF**<sup>(35)</sup>, **BOYD & SHAPLEIGH**<sup>(4)</sup>, **EMERIBE et al.**<sup>(8)</sup>, **ROTHWELL**<sup>(33)</sup> e outros autores de que a pesquisa da característica secretora, através de reações de inibição da hemaglutinação, é suficientemente segura para determinar o percentual de secretores e não secretores em uma determinada amostra populacional. Concordamos também com **GERARD et al.**<sup>(18)</sup>, de que a pesquisa da característica secretora em indivíduos portadores do fenótipo de Bombaim deve ser feita a partir do grupo sanguíneo de Lewis. Em nosso trabalho, não verificamos a correlação existente entre característica secretora e grupo sanguíneo de Lewis, pois estudos de

**THOMPSON & THOMPSON**<sup>(38)</sup>, em 1988, demonstraram que a frequência do fenótipo de Bombaim em leucodermas é muito baixa.

O emprego de reagentes comerciais em nosso estudo se deu devido a confiabilidade e facilidade de obtenção, embora alguns autores recomendarem o uso de isoaglutinininas, heteroaglutinininas e de outras lectinas nos testes de inibição da hemaglutinação. **SCHIFF**<sup>(35)</sup>, em 1940, usou soros humanos, anti-A e anti-B, em seu estudo antropológico. Neste trabalho, os indivíduos do grupo O foram excluídos do exame individual devido à dificuldade de obtenção de reagentes anti-O confiáveis.

**GRUBB**<sup>(19)</sup>, em 1948, para determinar as características secretoras nos indivíduos do grupo O, utilizou três anti-soros devido à dificuldade na obtenção de reagentes confiáveis. O primeiro reagente utilizado foi obtido pela imunização de coelhos com substâncias purificadas extraídas de cistos de secretores. O segundo obtido a partir do soro de *Anguila vulgaris* e o terceiro com o soro de uma galinha imunizada com suspensões de *Shigella shiga*. Neste estudo o autor analisou ainda a relação da característica secretora com o grupo sanguíneo de Lewis.

Entretanto, o trabalho de **BOYD & SHAPLEIGH**<sup>(4)</sup>, em 1957, forneceu importante subsídeo para a pesquisa da característica secretora nos indivíduos do grupo O. Os referidos autores demonstraram a eficiência da lectina anti-H, extraída da *Ulex europaeus* quando comparada ao anti-H extraído de uma enguia cientificamente conhecida por *Anguila vulgaris*.

**McNEIL et al.**<sup>(26)</sup>, em 1957, utilizaram um extrato salino da semente de *Lotus tetragonolobus*. **ERIKSSON et al.**<sup>(10)</sup>, em 1968, **PALATINIK et al.**<sup>(28)</sup>, em 1969, **BEIGUELMAN**<sup>(3)</sup>, em 1979, **ARMANET et al.**<sup>(2)</sup>, em 1982, **SAGISAKA, et al.**<sup>(34)</sup>, em 1983, preferiram utilizar o extrato de *Ulex europaeus* para determinar as características secretoras nos indivíduos do grupo O, devido a confiabilidade e facilidade de obtenção.

**YAZAWA & OHKAWARA**<sup>(41)</sup>, em 1992, utilizaram micro esferas azuis para evidenciar as reações de inibição da hemaglutinação.

Em nosso estudo, utilizamos a lectina extraída da *Ulex europaeus*, produzida comercialmente pela BIOTEST S/A, devido a facilidade de obtenção e confiabilidade do reagente. O uso desta lectina foi baseado nos estudos de **BOYD E SHAPHEYG**<sup>(4)</sup> e pesquisadores posteriores. Os anticorpos monoclonais anti-A e anti-B, produzidos pela BIOTEST, foram utilizados para padronização da técnica e por sua maior confiabilidade, quando comparada as isoaglutininas obtidas a partir de soros humanos.

Em relação a característica secretora, nossos resultados são compatíveis com os resultados encontrados por outros autores. Considerando os indivíduos secretores, temos um percentual global de 75,5%. **SCHIFF**<sup>(35)</sup>, em 1940, encontrou um percentual de 82,74% de secretores em leucodermas de Nova Iorque e um percentual global de 78% nos leucodermas de Berlim. **GRUBB**<sup>(19)</sup>, em 1948, estudando uma amostra populacional composta por 62 doadores, encontra um percentual global de 62,13%, independente do grupo racial.

**McNEIL et al.**<sup>(26)</sup>, em 1957, analisando a saliva de 100 doadores, encontraram um percentual de 75% de secretores. **ERIKSSON et al.**<sup>(10)</sup>, em 1968, verificando o polimorfismo da secreção de ABH, encontrou resultados percentuais que variam de 65% nos Islandeses à 95% nos Lapões do sul.

**PALATINIK et al.**<sup>(28)</sup>, em 1969, estudando diferentes grupos raciais na população brasileira, encontraram resultados percentuais nos leucodermas de 85,8%. Em relação ao nosso estudo, essa divergência nos resultados pode ser atribuída à metodologia empregada pelos referidos pesquisadores.

**ARMANET et al.**<sup>(2)</sup>, em seu estudo demonstraram um percentual global de 83,80% de secretores na população chilena. **EMERIBE et al.**<sup>(9)</sup>, demonstraram um percentual global de 86,9% de secretores no município de Calabar.

Entretanto, os estudos de **SCHIFF**<sup>(35)</sup>, em 1940, **ERIKSSON et al.**<sup>(10)</sup> em 1968 e **PALATINIK et al.**<sup>(28)</sup>, em 1969, demonstraram o valor antropológico do estudo das características secretoras na saliva e demais líquidos orgânicos.

Verificando o comportamento da característica secretora em relação ao sexo, nossos resultados demonstram que não existe diferenças relevantes no percentual de secretores nos sexos masculino e feminino. Nossos resultados são coincidentes com os resultados obtidos por **ARMANET et al.**<sup>(2)</sup>, em 1982, ao estudar a característica secretora na população chilena.

Considerando a característica secretora nas diferentes faixas etárias, verificamos que nossos resultados se comportaram como esperado, ou seja, verificamos a presença de secretores e não secretores nas diferentes faixas etárias estudadas. Isto demonstra que a teoria proposta por **SCHIFF & SASAKI**<sup>(36,37)</sup>, em 1940, estaria correta, ou seja, que o mecanismo de transmissão das características secretoras é hereditário, transmitindo-se de pai para filho segundo as leis mendelianas.

**LIMA O.L.**<sup>(25)</sup>, em 1977, descreveu que a sensibilidade à aglutinação dos sistemas de grupos sanguíneos é variável, crescendo desde a vida intrauterina até a puberdade, onde continua fixa e imutável. Apesar de ocorrer esta variabilidade, não significa que não ocorra a inibição da aglutinação.

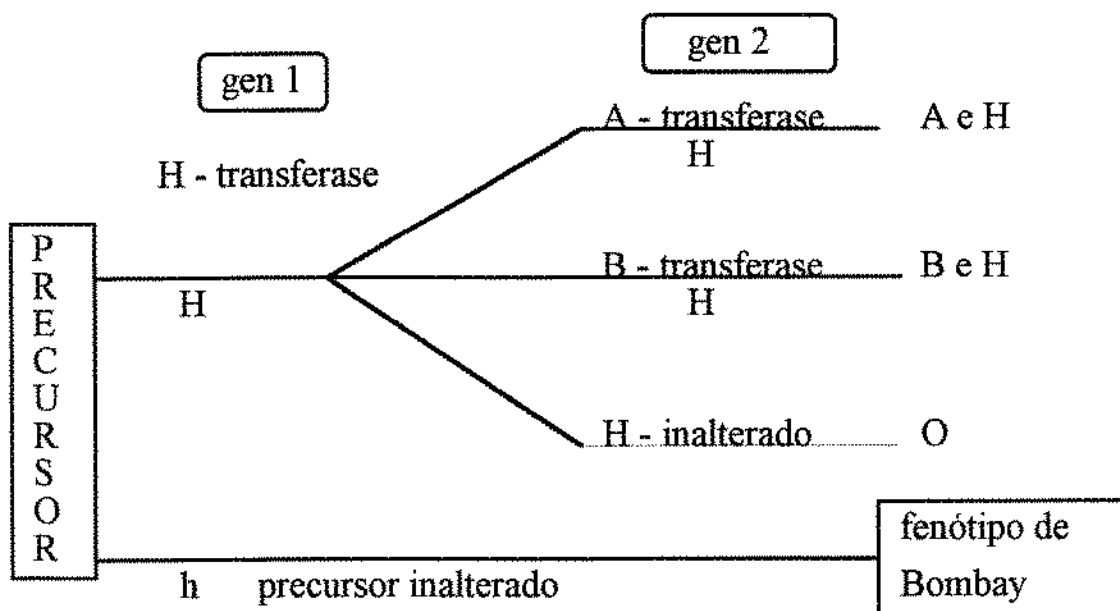
Verificando o comportamento da característica secretora nos diferentes grupos do sistema ABO, observamos que o maior percentual de secretores ocorreu nos indivíduos do grupo A, 87,34%, enquanto que o menor percentual ocorreu nos indivíduos do grupo AB, 52,14%. Entretanto, não podemos afirmar que a característica secretora ocorre com uma menor frequência nos indivíduos do grupo AB e com uma maior frequência no grupo A.

Esses resultados discrepantes entre os secretores do grupo A e os secretores do grupo AB, estão relacionados com o comportamento da amostra estudada. Devido a baixa frequência de indivíduos pertencentes ao grupo AB, não podemos afirmar que o percentual encontrado nesses indivíduos seja generalizado para o restante da população.

Isto nos faz concordar com as observações de **SCHIFF**<sup>(35)</sup>, em 1940, onde o autor demonstrou que não existe diferenças relevantes

na freqüência de secretores e não secretores, com relação grupos do sistema ABO. O mesmo autor, demonstrou ainda, que o gene Se era o responsável pela presença das substâncias ABH na saliva e demais secreções e que apesar desta relação a característica secretora ocorre independentemente do grupo sanguíneo do sistema ABO.

Em nossos resultados, constatamos a presença da substância H na saliva de todos os secretores. Tal fato foi explicado por **WATKINS & MORGAN**<sup>(30,31)</sup> e posteriormente por **CEPELINI**<sup>(6)</sup>, que demonstraram o mecanismo de formação das substâncias grupo-específicas do sistema ABH, conforme esquema 1. Este mecanismo é aceito até o presente momento e é válido para as substâncias hidrossolúveis e alcoolsolúveis. Sabe-se que a substância H se forma a partir de uma substância precursora sob a ação de um par de genes, Hh. Sabe-se ainda que as substância A e B são formadas a partir da substância H, sob a ação de um outro par de genes do sistema ABO. Desta forma, é possível demonstrar a presença da substância H na saliva dos indivíduos classificados como secretores.



**Esquema 1 - Proposto por WATKINS & MORGANS<sup>(30,31)</sup> e por CEPELLINI<sup>(6)</sup>.**

**BEIGUELMAN**<sup>(3)</sup>, demonstrou a presença da substância H na saliva de todos os indivíduos classificados como secretores. Desta forma, pode-se verificar a correlação existente entre as substâncias hidrosolúveis encontradas na saliva de um secretor com as substâncias alcoolsolúveis encontradas nos grupos sanguíneos do sistema ABO. Se um determinado secretor pertence ao grupo sanguíneo A, em situações normais encontramos em sua saliva as substâncias grupo-específicas A e H. Se pertencer ao grupo B, provavelmente encontraremos as substâncias grupo-específicas B e H. Nos indivíduos AB, encontraremos A, B e H e nos indivíduos do grupo O, verificamos somente a presença da substância H. Nos indivíduos não secretores, ao realizarmos testes de inibição da hemaglutinação, constataremos a ausência das substâncias grupo-específicas na saliva examinada.

Entretanto, **McNEIL et al.**<sup>(26)</sup>, em 1957, demonstrou a existência de indivíduos classificados como secretores aberrantes. Analisando a saliva de 100 indivíduos, o autor constatou a presença de seis secretores aberrantes, ou seja, 6%. Neste trabalho, o autor não citou o grupo racial destes indivíduos e definiu secretores aberrantes como sendo aqueles que secretam uma substância com título de de 1:64 ou mais e outra substância com título de 1:4 ou menos. Posteriormente, em 1969, **PALATINIK et al.**<sup>(28)</sup>, utilizando-se dos critérios adotados por **McNEIL et al.**<sup>(26)</sup>, estudou a característica secretora de 424 negros e 267 brancos na cidade de Porto Alegre, demonstrando a presença de 3 secretores aberrantes. Infelizmente o grupo racial destes indivíduos não foi citado.

Para demonstrar a presença de secretores aberrantes **McNEIL et al.**<sup>(26)</sup>, **PALATINIK et al.**<sup>(28)</sup>, se utilizaram a técnica de inibição da hemaglutinação, através da análise quantitativa. Assim sendo, através de uma "titulação da saliva", os autores demonstraram a quantidade das substâncias ABH na saliva dos indivíduos secretores.

Em nosso estudo empregamos análise qualitativa, mesmo assim constatamos a presença de um indivíduo e o classificamos como secretor aberrante. Este secretor aberrante

pertencia ao grupo sanguíneo A e em sua saliva encontramos apenas a substância H.

A presença deste secretor aberrante em nossa amostra, levou-nos a realizar-mos a análise quantitativa na saliva deste indivíduo. E, através desta análise, constatamos que a saliva deste indivíduo era desprovida da substância grupo-específica A. Devido a tal acontecimento, consideramos como secretor aberrante aquele que secreta uma substância grupo-específica e deixa de secretar outra, quando se efetua a análise qualitativa. Utilizamos esta classificação porque o grupo sanguíneo do sistema ABO era previamente conhecido.

Nossa amostra, após a coleta, desnaturação e centrifugação foi conservada em geladeira, à temperatura de 0 à 10° C. Entretanto autores como **PALATINIK et al.**<sup>(28)</sup>, em 1969, **BEIGUELMAN**<sup>(3)</sup>, em 1979 e **ARMANET et. al.**<sup>(2)</sup>, em 1982, recomendaram que as amostras de saliva deviam permanecer à temperatura de -20° C.

Em nossos resultados verificamos que não existe a necessidade de conservar-mos as amostras na temperatura de -20° C, visto que as substâncias grupo-específicas são resistentes à ação do tempo, conforme demonstrado por **FERREIRA**<sup>(12)</sup>, em 1962.

Considerando o tempo de conservação da amostra, **ETCHEVERRY et al.**<sup>(11)</sup>, em 1982, utilizando-se da análise quantitativa, verificou a capacidade de inibição das amostras de saliva de 103 indivíduos do grupo O e 1 indivíduo do grupo A<sub>2</sub>. Após a realização de dez testes ao longo de seis meses, os autores usam um sistema de gardientes S1 e S2 para verificar o tempo de conservação da amostra. Observaram que ao longo de seis meses, as amostras de saliva não perderam a sua capacidade de inibição.

Através da observação macroscópica, verificamos que a capacidade de inibição das amostras de secretores do lote D aos 3, 6, 9 e 14 meses não foi alterada. Todos os testes subseqüentes se portaram de maneira semelhante ao primeiro efetuado. Apesar de não efetuarmos a análise quantitativa, nossos resultados relatam que a saliva pode ser conservada por um período observado de 14 meses, demonstrando que os



resultados obtidos por **ETCHEVERY et al.**<sup>(11)</sup>, são de uma maneira geral semelhantes aos nossos resultados.

**CAPÍTULO 7**  
**CONCLUSÕES**

## 7 - CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos no presente trabalho obtivemos as seguintes conclusões:

7.1 - Das 200 amostras de saliva analisadas obtivemos 151 secretores, 48 não secretores e 01 secretor aberrante, o que representa um percentual global de 75,5% de secretores, 24,0% de não secretores e 0,5% de secretores aberrantes e apenas 1,08% se apresentaram como secretores aberrantes.

7.2 - Quanto as características secretoras, não encontramos diferenças em ambos os sexos, uma vez que no sexo masculino 76,42% se apresentaram secretores e 23,58% se apresentaram não secretores.

7.3 - No sexo feminino, 74,46% se apresentaram secretores e 24,46% se apresentaram não secretores.

7.4 - Em relação a idade, verificamos a presença de secretores e não secretores nas diferentes faixas etárias observadas, indicando-nos que a característica secretora não se relaciona com a idade

7.5 - Além da substância H, foram observadas a presença de substâncias grupo específicas A e B nos indivíduos pertencentes aos grupos sanguíneos A, B e AB, sendo que no indivíduo classificado como secretor aberrante foi encontrado apenas a substância H, apesar deste indivíduo pertencer ao grupo sanguíneo A. Devido a baixa frequência de secretores aberrantes observados na amostra é possível se determinar o grupo sanguíneo na saliva dos indivíduos classificados como secretores aberrantes com uma pequena margem de erro.

7.6 - Embora os autores consultados recomendam a conservação das amostras de saliva, após a desnaturação, a uma temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$ , verificamos no presente trabalho que as amostras de saliva mantidas em recipientes fechados, em geladeira a uma

temperatura variável de 0 a 10°C não sofreram nenhuma alteração nas reações de inibição da hemaglutinação, no período observado de 14 meses.

**CAPÍTULO 8**  
**RESUMO**

## 8 - RESUMO

Através de estudos realizados, sabe-se que existem dois grupos de indivíduos, no que diz respeito à existência de fatores grupo-específicos na saliva humana. O primeiro grupo denominado secretor constitui aproximadamente 80% e o segundo grupo constitui aproximadamente 20% da população.

No presente trabalho, estão sendo utilizadas 200 amostras de saliva humana "in natura", coletadas de alunos dos cursos de graduação da FOP-Unicamp, EFOA-Alfenas e doadores voluntários, distribuídas em quatro lotes distintos. As amostras foram submetidas ao processo de desnaturação, isto é, ao banho-maria durante 20 minutos a fim de se eliminar outras proteínas não interessantes nestes exames.

Após a centrifugação da saliva, retirou-se o sobrenadante para a realização dos testes de inibição da hemaglutinação.

Os resultados finais demonstram uma pequena diferença em relação aos autores consultados, demonstrando que a determinação dos fatores grupo-específicos na saliva apresenta grande interesse pericial, na possibilidade de se determinar a existência ou não de vínculo genético entre ascendentes e descendentes, uma vez que, os secretores apresentam-se em caráter dominante e os não secretores com caráter recessivo.

**CAPÍTULO 9**  
**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

## 9 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS \*

1. ANDRESEN, P.H. Acta path. microbiol. scand., Kjobenhav, v.24, p.616, 1947. Apud GRUBB, R. op. cit. Ref. 19.
2. ARMANET, B.L. et al. Sistema secretor salivar ABH en poblacion chilena. Revta méd. Chile, Santiago, v.110, n.8, p.793-796, Aug. 1982.
3. BEIGUELMAN, B. O sistema secretor e o sistema Lewis. In: \_\_\_\_\_. Genética médica: farmacogenética dos sistemas sanguíneos eritrocitários em genética e na prática médica. São Paulo: Edart, 1979, v.3, cap.5, p.129-135.
4. BOYD, W.C., SHAPLEIGH, E. Separation of individuals of any blood group into secretors and non-secretors by use of a plant agglutinin (lectin). Blood, New York, v.9, p.1195-1198, 1954.
5. BURON, F.A. A diferenciacion de las sustancias especificas de los grupos sanguineos en la saliva. An. esp. Odontoestomat., Madrid, v.19, p.221-231, 1960.
6. CEPELLINI, R. Physiological genetics of human blood factors. In: WALSTENHOLME, G.E.W., O'CONNER, C.N., ed. Ciba Foundation Symposium biochemistry of human genetics. Boston: Little Brown, 1959. p.242. Apud MOTTA, P.A. Genética médica. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koggan, 1980.
7. CONSELHO FEDERAL DE ODONTOLOGIA. Consolidação das normas para procedimentos nos conselhos de odontologia: aprovado pela resolução CFO-185. Rio de Janeiro: CFO, 1993.
8. DUBE, V.E. et al. Effect of ABO group, secretor status and sex on cold hemagglutinins in normal adults. Vox Sang., Basel, v.46, n.2, p.75-79, 1984.

\*De acordo com a NB-6023 da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), de 1989.



9. EMERIBE, A.O., IGWEAGU, C.A., OSIM, E.E. ABH secretor status in saliva of Calabar municipality residents. E. Afr. med. J., Nairobi, v.69, n.1, p.27-30, Jan. 1992.
10. ERIKSSON, A.W. et al. ABH secretion in Icelanders, Aland Islanders, Finns, Finnish Lapps, Komi and Greenland Eskimos: a review and new data. Ann. hum. Biol., Basingstoke, v.13, n.3, p.273-285, May/June. 1986.
11. ETCHEVERRY, B.S., CABUTTI, N.E.F., PALATINIK, M. Determinación del carácter secretor de ABH - análisis metodológico. SANGRE, Barcelona, v.27, n.6, p.1003-1010, nov/dec. 1982.
12. FERREIRA, A.A. Perícia das manchas de saliva e da mucosidade vaginal. In: \_\_\_\_\_. Da técnica médico-legal na investigação forense. São Paulo: Revista dos Tribunais, 1962. v.2, cap.25, p.290-326.
13. FIORI, A., GIUSTI, G.V., PANARI G. Demonstration of various ABH molecular Type in the saliva of secretors. Med. leg. damage corp., v.2, n.4, p364-366, oct./dec. 1969. Apud KIND et al. op. cit. Ref. 21.
14. \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_. Gel filtration of ABH blood group substances. 3. ABH gel filtration pattern of solubilised red cell stroma J. Chromat., Amsterdam, v.55, n.2, p365-375, mar. 1971. Apud ROTHWHEEL, T.J. op. cit. Ref. 33.
15. \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_. Gel filtration of ABH blood group substances. II. Individual gel chromatographic patterns in the saliva of secretors and non-secretors. J. Chromat., Amsterdam, v.55, n.2, p365-375, mar. 1971. Apud ROTHWHEEL, T.J. op. cit. Ref. 33.

16. \_\_\_\_\_ et al. Gel filtration of ABH blood group substances. I. Fractionation of ABH substances human saliva. J. Chromat., Amsterdam, v.55, n.2, p.337-349, mar. 1971. Apud ROTHWHEEL, T.J. op. cit. Ref. 33.
  
17. FRIENDENREICH, V., HARTMAN, G. Über die Verteilung der Gruppantigene un organismus der sogenannten "Ausscheider" und "Nichtausscheider. Z. Immun Forsch. exp. Ther., Jena, v.92, p.141-151, 1938. Apud LIMA O.L. et al. op. cit. Ref. 25.
  
18. GERARD G. et al. H-deficient blood groups (Bombay) of reunion Island. Am. J. hum. Genet., Chicago, v.34, n.6, p.937-947, Nov. 1982.
  
19. GRUBB, R. Correlation between Lewis blood group and secretor character in man. Nature, London, v.162, n.4128, Dec. 1948.
  
20. \_\_\_\_\_. Observations on the human group system Lewis. Acta path. microbiol. scand., Kjobenhavn, v.68, p.61-81, 1951.
  
21. KIND, S.S. et al. The molecular polymorphism of ABH blood-group substances in humam saliva - a scientific enigma? J. forens. Sci. Soc., Harrogate, v.19, n.4, p.287-291, Oct. 1979.
  
22. LANDSTEINER, K. Zentbl. Bakt. ParasitKde, Jena, v.27, p.257, 1900. Apud THOMPSON, J.S , THOMPSON, M.W. op. cit. Ref. 38
  
23. LIMA, C.P. et al. Determinação dos grupos sanguíneos ABO e Rh em lâmina. In: \_\_\_\_\_. Genética humana. 2.ed. São Paulo: Harper & Row, 1984. cap.26, p.322-325.
  
24. \_\_\_\_\_. Grupos sanguíneos. In: \_\_\_\_\_. Genética humana. 2.ed. São Paulo: Harper & Row, 1984. cap.25, p.297-311.

25. LIMA, O.L. et al. Imuno-hematologia. In: \_\_\_\_\_. Métodos de laboratório aplicados à clínica. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1977. cap.22, p.519-532, 639-632.
26. McNEIL, C. et al. Aberrant secretion of salivary A, B and H group substances in human beings. Am. J. clin. Path., Baltimore, v.28, p.145-151, Aug. 1957.
27. ORIOL, R., DANILOVS, J., HAWKINS B.R. A new model proposing that the Se gene is a structural gene closely linked to the h gene. Am. J. hum. Genet., Chicago, v.33, n.3, p.421-431, May. 1981.
28. PALATINIK, M., DE SÁ, M.J.F.B., SALZANO, F. M. ABH salivary secretion and white/negro gene flow in a Brazilian population. Hum. Biol., Detroit, v.41, n.1, p.83-93, Feb. 1969.
29. PATTO, G.S. O sistema de grupos sanguíneos ABO. I. LAES/HAES, São Paulo, v.5, n.5, p.70-73, junho/julho 1984.
30. \_\_\_\_\_. O sistema de grupos sanguíneos ABO. II. LAES/HAES, São Paulo, v.5, n.6, p.76-80, agosto/setembro 1984.
31. \_\_\_\_\_. O sistema de grupos sanguíneos ABO. III. LAES/HAES, São Paulo, v.6, n.1, p.78-80, outubro/novembro 1984.
32. PHANSOMBOON, S. The incidence of anti-A and anti-B agglutinins in saliva of the Thai people. Vox Sang., Basel, v.14, p.396-399, 1968.
33. ROTHWELL, T.J. Studies on the blood group substances in saliva. J. forens. Sci. Soc., Harrogate, v.19, n.4, p.301-308, Nov. 1979.

34. SAGISAKA, K. et al. Serological distinction of H antigen between saliva and red cell in forense pratice. Tohoku J. exp. Med., Sendai, v.141, n.4, p.211-215, Oct. 1983.
35. SCHIFF, F. Racial diferences in frequency of the "secreting factor". Am. J. phys. Anthropol., New York, v.27, p.255-262, 1940.
36. \_\_\_\_\_, SASAKI, K. Der Ausscheidungstyp, lin ouf serologischem wege nacheisbares memdelndes. Merkumal. Klin. Wschr., Berlin, v.11, p.1426, 1932a. Apud SCHIFF, F. op. cit. Ref. 35.
37. \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ Ueber die vererbung des serologischem Ausscheidungstypus. Z. Immun Forsh. exp. Ther., Jena, v.77, p.129, 1932b. Apud SCHIFF, F. op. cit. Ref. 35.
38. THOMPSON, J.S., THOMPSON, M.W. Grupos sanguíneos e outros marcadores genéticos. In: \_\_\_\_\_. Genética médica. 2.ed. São Paulo: Ateneu, 1988. cap.9, p.205-239.
39. WATKINS, W.M., MORGAN, W.T.J. Vox sang., Basel, v.5, p.1, 1955. Apud PATTO G. S. op. cit. Ref. 30.
40. \_\_\_\_\_ Vox sang., (nova série), Basel, v.4, p.97, 1955. Apud PATTO G. S. op. cit. Ref. 30.
41. YAZAWA, S., OHKAWARA, H. A simple and sensitive method for the determination of blood group antigens in secretions. J. Immun. Meth., Amsterdam, v.147, n.1, p.21-25, Feb. 1992.

**CAPÍTULO 10**  
**APÊNDICE**

## 10 - APÊNDICE

TABELA 1 - APRESENTAÇÃO DOS DADOS OBTIDOS NO LOTE A. 24/08/93

| Nº  | NOME       | SEXO  | ESTADO SECRETOR | G.S. | IDADE |
|-----|------------|-------|-----------------|------|-------|
| A1  | S.F.R.     | MASC. | NÃO SECRETOR    | O    | 20 A. |
| A2  | S.E.L.A.   | MASC. | SECRETOR        | A    | 20 A. |
| A3  | R.A.N.     | MASC. | NÃO SECRETOR    | B    | 24 A. |
| A4  | R.F.M.B.   | MASC. | SECRETOR        | A    | 19 A. |
| A5  | S.M.F.     | FEM.  | SECRETOR H      | A    | 19 A. |
| A6  | R.T.       | MASC. | SECRETOR        | B    | 20 A. |
| A7  | R.V.       | MASC. | SECRETOR        | A    | 22 A. |
| A8  | S.T.A.     | FEM.  | SECRETOR        | O    | 18 A. |
| A9  | P.M.S.X.   | FEM.  | SECRETOR        | A    | 19 A. |
| A10 | R.P.       | FEM.  | SECRETOR        | A    | 22 A. |
| A11 | P.P.L.V.   | MASC. | SECRETOR        | A    | 21 A. |
| A12 | R.R.A.     | FEM.  | SECRETOR        | O    | 21 A. |
| A13 | R.S.       | MASC. | NÃO SECRETOR    | B    | 25 A. |
| A14 | R.P.L.     | MASC. | SECRETOR        | B    | 19 A. |
| A15 | D.B.F.     | FEM.  | SECRETOR        | O    | 19 A. |
| A16 | R.F.P.J.   | MASC. | NÃO SECRETOR    | O    | 20 A. |
| A17 | M.S.S.     | FEM.  | SECRETOR        | B    | 22 A. |
| A18 | M.W.       | MASC. | NÃO SECRETOR    | AB   | 19 A. |
| A19 | O.F.V.     | MASC. | SECRETOR        | O    | 19 A. |
| A20 | R.M.F.     | MASC. | SECRETOR        | A    | 23 A. |
| A21 | W.S.M.     | MASC. | SECRETOR        | A    | 19 A. |
| A22 | W.S.F.     | MASC. | SECRETOR        | O    | 20 A. |
| A23 | C.M.S.B.   | FEM.  | SECRETOR        | B    | 19 A. |
| A24 | A.M.       | FEM.  | NÃO SECRETOR    | O    | 19 A. |
| A25 | W.P.O.     | MASC. | NÃO SECRETOR    | A    | 19 A. |
| A26 | V.C.M.     | FEM.  | NÃO SECRETOR    | O    | 21 A. |
| A27 | L.C.G.     | MASC. | SECRETOR        | B    | 19 A. |
| A28 | M.N.S.     | MASC. | SECRETOR        | B    | 20 A. |
| A29 | S.I.S.     | MASC. | SECRETOR        | B    | 19 A. |
| A30 | K.C.B.B.   | FEM.  | SECRETOR        | B    | 20 A. |
| A31 | F.N.       | MASC. | SECRETOR        | A    | 19 A. |
| A32 | M.T.V.     | MASC. | SECRETOR        | A    | 21 A. |
| A33 | E.V.M.     | MASC. | SECRETOR        | O    | 20 A. |
| A34 | M.C.C.     | FEM.  | NÃO SECRETOR    | A    | 21 A. |
| A35 | M.V.O.     | MASC. | SECRETOR        | O    | 20 A. |
| A36 | L.H.C.F.   | MASC. | SECRETOR        | A    | 18 A. |
| A37 | A.P.P.L.C. | FEM.  | SECRETOR        | O    | 18 A. |
| A38 | C.C.S.     | FEM.  | SECRETOR        | A    | 28 A. |
| A39 | M.H.F.     | MASC. | SECRETOR        | A    | 27 A. |
| A40 | L.P.       | FEM.  | SECRETOR        | B    | 20 A. |
| A41 | L.G.S.S.   | MASC. | SECRETOR        | O    | 18 A. |
| A42 | L.A.Q.S.   | MASC. | SECRETOR        | O    | 19 A. |
| A43 | L.G.R.F.   | MASC. | SECRETOR        | O    | 19 A. |
| A44 | L.F.M.J.   | MASC. | SECRETOR        | O    | 21 A. |
| A45 | F.G.D.     | FEM.  | SECRETOR        | O    | 18 A. |
| A46 | F.R.G.     | FEM.  | SECRETOR        | O    | 19 A. |
| A47 | E.P.T.     | FEM.  | SECRETOR        | A    | 20 A. |
| A48 | D.A.V.     | MASC. | SECRETOR        | A    | 20 A. |
| A49 | G.A.O.     | MASC. | NÃO SECRETOR    | B    | 22 A. |
| A50 | S.T.S.     | FEM.  | NÃO SECRETOR    | O    | 20 A. |

TABELA 2 - APRESENTAÇÃO DOS DADOS OBTIDOS NO LOTE B. 23/11/93

| Nº   | INICIAIS | SEXO  | ESTADO SECRETOR | G.S. | IDADE |
|------|----------|-------|-----------------|------|-------|
| B51  | K.A.B.   | FEM.  | SECRETOR        | A    | 19 A. |
| B52  | E.C.C.   | MASC. | SECRETOR        | A    | 23 A. |
| B53  | L.F.A.S. | FEM.  | SECRETOR        | A    | 20 A. |
| B54  | I.R.L.   | MASC. | NÃO SECRETOR    | A    | 20 A. |
| B55  | J.C.     | MASC. | SECRETOR        | O    | 18 A. |
| B56  | G.B.A.   | MASC. | SECRETOR        | O    | 19 A. |
| B57  | D.T.N.   | MASC. | NÃO SECRETOR    | B    | 20 A. |
| B58  | J.G.P.   | FEM.  | SECRETOR        | O    | 21 A. |
| B59  | S.R.     | FEM.  | SECRETOR        | A    | 21 A. |
| B60  | E.V.B.   | MASC. | SECRETOR        | A    | 19 A. |
| B61  | J.S.C.   | FEM.  | SECRETOR        | O    | 20 A. |
| B62  | H.T.Q.   | MASC. | NÃO SECRETOR    | O    | 19 A. |
| B63  | K.P.B.   | FEM.  | SECRETOR        | O    | 19 A. |
| B64  | D.M.     | FEM.  | SECRETOR        | B    | 23 A. |
| B65  | M.G.B.   | MASC. | SECRETOR        | A    | 20 A. |
| B66  | L.B.S.   | FEM.  | NÃO SECRETOR    | AB   | 21 A. |
| B67  | W.G.S.   | FEM.  | SECRETOR        | A    | 22 A. |
| B68  | A.C.M.   | FEM.  | SECRETOR        | O    | 21 A. |
| B69  | A.L.P.   | MASC. | NÃO SECRETOR    | O    | 20 A. |
| B70  | C.C.S.   | MASC. | NÃO SECRETOR    | O    | 19 A. |
| B71  | A.C.S.   | FEM.  | SECRETOR        | A    | 18 A. |
| B72  | D.S.G.   | FEM.  | SECRETOR        | O    | 18 A. |
| B73  | A.P.C.   | FEM.  | NÃO SECRETOR    | A    | 20 A. |
| B74  | C.A.J.   | FEM.  | SECRETOR        | A    | 20 A. |
| B75  | A.N.S.   | FEM.  | NÃO SECRETOR    | O    | 19 A. |
| B76  | D.B.A.   | FEM.  | SECRETOR        | A    | 20 A. |
| B77  | A.F.G.   | FEM.  | NÃO SECRETOR    | O    | 20 A. |
| B78  | A.G.A.P. | FEM.  | NÃO SECRETOR    | A    | 19 A. |
| B79  | A.R.F.   | FEM.  | SECRETOR        | O    | 19 A. |
| B80  | B.S.     | MASC. | NÃO SECRETOR    | O    | 20 A. |
| B81  | A.J.R.   | MASC. | SECRETOR        | O    | 22 A. |
| B82  | A.R.O.   | MASC. | SECRETOR        | O    | 21 A. |
| B83  | C.L.S.C. | MASC. | SECRETOR        | O    | 23 A. |
| B84  | A.A.P.   | MASC. | SECRETOR        | A    | 21 A. |
| B85  | C.A.L.S. | MASC. | NÃO SECRETOR    | O    | 21 A. |
| B86  | C.M.S.S. | FEM.  | SECRETOR        | A    | 19 A. |
| B87  | D.M.L.   | FEM.  | NÃO SECRETOR    | O    | 21 A. |
| B88  | G.O.N.   | FEM.  | SECRETOR        | A    | 19 A. |
| B89  | C.P.T.   | FEM.  | SECRETOR        | O    | 20 A. |
| B90  | A.H.L.   | FEM.  | SECRETOR        | A    | 20 A. |
| B91  | E.M.S.   | FEM.  | SECRETOR        | A    | 20 A. |
| B92  | G.A.     | MASC. | SECRETOR        | B    | 23 A. |
| B92  | F.P.P.   | MASC. | SECRETOR        | A    | 20 A. |
| B94  | E.S.S.   | MASC. | SECRETOR        | A    | 25 A. |
| B95  | E.L.     | FEM.  | SECRETOR        | A    | 22 A. |
| B96  | E.H.P.   | MASC. | SECRETOR        | O    | 21 A. |
| B97  | F.W.     | MASC. | SECRETOR        | A    | 23 A. |
| B98  | V.F.G.   | MASC. | SECRETOR        | A    | 20 A. |
| B99  | E.J.S.B. | MASC. | SECRETOR        | A    | 22 A. |
| B100 | F.S.B.   | FEM.  | NÃO SECRETOR    | O    | 19 A. |

TABELA 3 - APRESENTAÇÃO DOS DADOS OBTIDOS NO LOTE C. 17/03/94

| Nº   | INICIAIS | SEXO  | ESTADO SECRETOR | G.S. | IDADE |
|------|----------|-------|-----------------|------|-------|
| C101 | J.G.     | MASC. | SECRETOR        | O    | 22 A. |
| C102 | H.D.S.   | MASC. | SECRETOR        | B    | 19 A. |
| C103 | D.T.A.   | MASC. | NÃO SECRETOR    | O    | 24 A. |
| C104 | G.N.F.   | MASC. | SECRETOR        | O    | 23 A. |
| C105 | G.M.G.P. | FEM.  | SECRETOR        | O    | 21 A. |
| C106 | G.A.A.J. | MASC. | NÃO SECRETOR    | O    | 19 A. |
| C107 | F.Q.C.   | FEM.  | SECRETOR        | O    | 18 A. |
| C108 | F.S.S.   | MASC. | SECRETOR        | O    | 20 A. |
| C109 | E.P.O.   | MASC. | SECRETOR        | A    | 23 A. |
| C110 | B.F.P.   | MASC. | SECRETOR        | A    | 21 A. |
| C111 | A.D.S.C. | MASC. | SECRETOR        | A    | 22 A. |
| C112 | B.A.C.   | FEM.  | NÃO SECRETOR    | O    | 20 A. |
| C113 | C.E.C.S. | MASC. | SECRETOR        | O    | 21 A. |
| C114 | A.W.     | MASC. | SECRETOR        | A    | 19 A. |
| C115 | A.A.F.   | MASC. | NÃO SECRETOR    | B    | 20 A. |
| C116 | C.A.S.   | MASC. | SECRETOR        | A    | 19 A. |
| C117 | A.Z.     | FEM.  | NÃO SECRETOR    | A    | 21 A. |
| C118 | A.O.S.   | FEM.  | SECRETOR        | A    | 19 A. |
| C119 | A.R.L.   | FEM.  | SECRETOR        | O    | 19 A. |
| C120 | A.C.D.   | FEM.  | SECRETOR        | A    | 20 A. |
| C121 | A.R.A.   | FEM.  | SECRETOR        | O    | 19 A. |
| C122 | A.T.C.   | FEM.  | SECRETOR        | AB   | 19 A. |
| C123 | B.M.     | MASC. | SECRETOR        | B.   | 19 A. |
| C124 | A.T.C.   | FEM.  | SECRETOR        | O    | 19 A. |
| C125 | J.B.A.   | MASC. | SECRETOR        | A    | 23 A. |
| C126 | N.S.O.   | FEM.  | SECRETOR        | A    | 19 A. |
| C127 | R.F.C.   | MASC. | SECRETOR        | AB   | 19 A. |
| C128 | P.A.S.   | MASC. | SECRETOR        | A    | 22 A. |
| C129 | R.L.V.   | MASC. | SECRETOR        | O    | 21 A. |
| C130 | P.C.F.A. | MASC. | SECRETOR        | A    | 20 A. |
| C131 | A.N.R.   | FEM.  | SECRETOR        | A    | 23 A. |
| C132 | A.C.A.M. | FEM.  | SECRETOR        | B    | 20 A. |
| C133 | R.M.T.   | FEM.  | NÃO SECRETOR    | O    | 23 A. |
| C134 | R.M.     | MASC. | SECRETOR        | B    | 21 A. |
| C135 | D.L.     | MASC. | SECRETOR        | O    | 25 A. |
| C136 | C.M.F.   | FEM.  | NÃO SECRETOR    | O    | 24 A. |
| C137 | L.C.F.   | MASC. | SECRETOR        | O    | 02 A. |
| C138 | C.A.L.   | FEM.  | SECRETOR        | A    | 19 A. |
| C139 | F.M.B.   | FEM.  | SECRETOR        | O    | 22 A. |
| C140 | L.C.F.   | MASC. | SECRETOR        | A    | 34 A. |
| C141 | L.H.P.   | MASC. | SECRETOR        | A    | 31 A. |
| C142 | R.O.     | FEM.  | SECRETOR        | A    | 24 A. |
| C143 | L.C.     | FEM.  | SECRETOR        | B    | 16 A. |
| C144 | F.H.A.   | MASC. | SECRETOR        | A    | 34 A. |
| C145 | C.C.J.   | MASC. | SECRETOR        | A    | 19 A. |
| C146 | C.M.P.   | FEM.  | SECRETOR        | B    | 33 A. |
| C147 | G.S.B.   | MASC. | SECRETOR        | A    | 24 A. |
| C148 | R.N.B.B. | FEM.  | SECRETOR        | A    | 19 A. |
| C149 | G.R.     | MASC. | SECRETOR        | O    | 22 A. |
| C150 | C.P.     | FEM.  | SECRETOR        | O    | 20 A. |



TABELA 4-APRESENTAÇÃO DOS DADOS OBTIDOS NO LOTE D. 17/05/93.

| Nº   | INICIAIS | SEXO  | ESTADO SECRETOR | G.S. | IDADE |
|------|----------|-------|-----------------|------|-------|
| D151 | S.S.L.   | FEM.  | NÃO SECRETOR    | O    | 19 A. |
| D152 | M.G.     | FEM.  | SECRETOR        | AB   | 21 A. |
| D153 | N.K.     | MASC. | SECRETOR        | B    | 22 A. |
| D154 | O.S.T.   | MASC. | SECRETOR        | O    | 23 A. |
| D155 | R.S.     | MASC. | SECRETOR        | B    | 19 A. |
| D156 | R.D.     | FEM.  | SECRETOR        | O    | 21 A. |
| D157 | N.A.S.L. | FEM.  | NÃO SECRETOR    | O    | 19 A. |
| D158 | J.M.     | MASC. | SECRETOR        | A    | 57 A. |
| D159 | V.L.P.   | FEM.  | SECRETOR        | B    | 37 A. |
| D160 | D.M.P.   | FEM.  | SECRETOR        | A    | 11 A. |
| D161 | O.P.     | MASC. | SECRETOR        | A    | 51 A. |
| D162 | S.A.P.   | FEM.  | SECRETOR        | O    | 53 A. |
| D163 | M.S.A.P. | FEM.  | NÃO SECRETOR    | B    | 26 A. |
| D164 | C.A.M.   | MASC. | NÃO SECRETOR    | O    | 25 A. |
| D165 | A.J.N.   | FEM.  | SECRETOR        | O    | 21 A. |
| D166 | B.T.     | MASC. | NÃO SECRETOR    | O    | 06 A. |
| D167 | M.A.T.   | MASC. | SECRETOR        | A    | 28 A. |
| D168 | R.G.     | FEM.  | SECRETOR        | A    | 29 A. |
| D169 | I.E.O.   | FEM.  | SECRETOR        | O    | 20 A. |
| D170 | A.J.N.L. | MASC. | SECRETOR        | O    | 20 A. |
| D171 | C.A.S.   | FEM.  | NÃO SECRETOR    | AB   | 24 A. |
| D172 | A.S.     | MASC. | NÃO SECRETOR    | A    | 18 A. |
| D173 | D.T.     | FEM.  | SECRETOR        | O    | 18 A. |
| D174 | G.T.S.   | FEM.  | NÃO SECRETOR    | A    | 01 A. |
| D175 | C.F.     | MASC. | NÃO SECRETOR    | A    | 22 A. |
| D176 | L.B.O.   | FEM.  | SECRETOR        | O    | 19 A. |
| D177 | R.B.O.   | MASC. | SECRETOR        | A    | 02 A. |
| D178 | A.A.     | MASC. | SECRETOR        | A    | 50 A. |
| D179 | O.J.     | MASC. | SECRETOR        | O    | 45 A. |
| D180 | B.C.A.   | FEM.  | SECRETOR        | A    | 45 A. |
| D181 | B.J.     | FEM.  | SECRETOR        | A    | 21 A. |
| D182 | S.C.A.   | FEM.  | SECRETOR        | A    | 19 A. |
| D183 | R.M.C.   | MASC. | SECRETOR        | A    | 22 A. |
| D184 | F.M.M.   | MASC. | SECRETOR        | A    | 25 A. |
| D185 | J.B.C.   | MASC. | SECRETOR        | O    | 33 A. |
| D186 | L.M.     | FEM.  | SECRETOR        | O    | 25 A. |
| D187 | M.S.C.   | MASC. | SECRETOR        | O    | 21 A. |
| D188 | M.A.V.   | MASC. | NÃO SECRETOR    | A    | 25 A. |
| D189 | A.C.S.   | MASC. | NÃO SECRETOR    | O    | 34 A. |
| D190 | A.S.     | MASC. | SECRETOR        | B    | 23 A. |
| D191 | M.P.S.   | FEM.  | SECRETOR        | B    | 23 A. |
| D192 | B.M.     | FEM.  | SECRETOR        | O    | 18 A. |
| D193 | N.L.S.   | FEM.  | SECRETOR        | B    | 17 A. |
| D194 | A.M.J.   | MASC. | SECRETOR        | AB   | 23 A. |
| D195 | L.C.A.C. | MASC. | NÃO SECRETOR    | O    | 16 A. |
| D196 | C.A.S.   | MASC. | NÃO SECRETOR    | O    | 32 A. |
| D197 | J.S.L.   | FEM.  | NÃO SECRETOR    | O    | 25 A. |
| D198 | R.A.     | FEM.  | SECRETOR        | O    | 32 A. |
| D199 | C.L.F.   | FEM.  | NÃO SECRETOR    | O    | 21 A. |
| D200 | H.C.B.   | FEM.  | NÃO SECRETOR    | O    | 17 A. |

TABELA 5 - TABELA DOS SECRETORES - LOTE D

Testes realizados aos 3, 6, 9 e 14 meses.

|            | 17/05/93 | 24/08/93 | 23/11/93 | 17/03/94 |   |   |   |   |   |   |   |   |
|------------|----------|----------|----------|----------|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Secretores | A        | B        | H        | A        | B | H | A | B | H | A | B | H |
| D152       | -        | -        | -        | -        | - | - | - | - | - | - | - | - |
| D153       | +        | -        | -        | +        | - | - | + | - | - | + | - | - |
| D154       | +        | +        | -        | +        | + | - | + | + | - | + | + | - |
| D155       | +        | -        | -        | +        | - | - | + | - | - | + | - | - |
| D156       | +        | +        | -        | +        | + | - | + | + | - | + | + | - |
| D158       | -        | +        | -        | -        | + | - | - | + | - | - | + | - |
| D159       | +        | -        | -        | +        | - | - | + | - | - | + | - | - |
| D160       | -        | +        | -        | -        | + | - | - | + | - | - | + | - |
| D161       | -        | +        | -        | -        | + | - | - | + | - | - | + | - |
| D162       | +        | +        | -        | +        | + | - | + | + | - | + | + | - |
| D165       | +        | +        | -        | +        | + | - | + | + | - | + | + | - |
| D167       | -        | +        | -        | -        | + | - | - | + | - | - | + | - |
| D168       | -        | +        | -        | -        | + | - | - | + | - | - | + | - |
| D169       | +        | +        | -        | +        | + | - | + | + | - | + | + | - |
| D170       | +        | +        | -        | +        | + | - | + | + | - | + | + | - |
| D173       | +        | +        | -        | +        | + | - | + | + | - | + | + | - |
| D176       | +        | +        | -        | +        | + | - | + | + | - | + | + | - |
| D177       | -        | +        | -        | -        | + | - | - | + | - | - | + | - |
| D178       | -        | +        | -        | -        | + | - | - | + | - | - | + | - |
| D179       | +        | +        | -        | +        | + | - | + | + | - | + | + | - |
| D180       | -        | +        | -        | -        | + | - | - | + | - | - | + | - |
| D181       | -        | +        | -        | -        | + | - | - | + | - | - | + | - |
| D182       | -        | +        | -        | -        | + | - | - | + | - | - | + | - |
| D183       | -        | +        | -        | -        | + | - | - | + | - | - | + | - |
| D184       | -        | +        | -        | -        | + | - | - | + | - | - | + | - |
| D185       | +        | +        | -        | +        | + | - | + | + | - | + | + | - |
| D186       | +        | +        | -        | +        | + | - | + | + | - | + | + | - |
| D187       | +        | +        | -        | +        | + | - | + | + | - | + | + | - |
| D190       | +        | -        | -        | +        | - | - | + | - | - | + | - | - |
| D191       | +        | -        | -        | +        | - | - | + | - | - | + | - | - |
| D192       | +        | +        | -        | +        | + | - | + | + | - | + | + | - |
| D193       | +        | -        | -        | +        | - | - | + | - | - | + | - | - |
| D194       | -        | -        | -        | -        | - | - | - | - | - | - | - | - |
| D198       | +        | +        | -        | +        | + | - | + | + | - | + | + | - |