

Utilização de saliva para o diagnóstico laboratorial

Saliva use for laboratory diagnosis

Ana Paula Rios Santana de Oliveira¹

Camila Oliveira de Carvalho¹

Isabela Peixoto Brandão²

Resumo

A saliva tem ganhado espaço no meio laboratorial, devido a sua potencialidade como amostra biológica. Por se tratar de um fluido em tempo real, de fácil acesso e obtenção, a saliva vem sendo estudada com o intuito de se obter o diagnóstico e prognóstico de determinadas doenças. Esta é uma amostra de natureza menos invasiva, mais confortável e de baixo custo. Este trabalho visa descrever sobre a utilização da saliva como amostra biológica para exames imunológicos, relacionando os analitos já existentes na saliva e com a associação da sensibilidade desse método em relação a outras amostras biológicas. O presente artigo trata-se de uma revisão integrativa, feita através da análise de 238 artigos, dos quais, foram selecionados 25. Os principais critérios para a inclusão foram de artigos científicos na língua inglesa e portuguesa, publicados entre o período de 2010 a 2019 que tratam do uso da saliva para exames imunológicos. Já existem exames que utilizam a análise salivar, contudo ainda há necessidade de padronização dos valores de referência nas dosagens dos analitos, comprovando assim a sua capacidade de detecção de biomarcadores. Podendo assim afirmar que a utilização da saliva tem muitos benefícios para análise diagnóstica.

Palavras-chave

Saliva; diagnóstico laboratorial; biomarcadores

INTRODUÇÃO

O câncer, as doenças cardiovasculares, metabólicas e neurológicas são exemplos de patologias que trazem um impacto global, afetando grande parte dos seres humanos. Diagnosticar e tratar essas patologias têm se tornado um desafio para todos os profissionais da área de saúde, e nesse quesito de investigação, favorece os testes laboratoriais que são de suma importância, pois trazem uma complementação e confirmação para as avaliações clínicas.⁽¹⁾

Existem inúmeros métodos que são utilizados no diagnóstico de certas doenças. Muitos são invasivos, dolorosos ou de alto custo, o que leva desconforto para o paciente. Para exames clínicos, podem ser usadas amostras biológicas de diferentes naturezas como soro, plasma, urina, saliva, outros líquidos como o pleural, sinovial, cefalorraquidiano e ascítico. A saliva, por outro lado, é uma amostra de natureza menos invasiva e de fácil obtenção.⁽²⁾

A saliva é um fluido biológico secretado a partir das glândulas salivares, composta de uma variedade de substâncias como hormônios, proteínas, ácidos nucleicos

e anticorpos. Em virtude de ser um fluido que pode ser coletado em tempo real, a saliva tem sido muito visada, pois ela reflete o estado de saúde atual de um indivíduo através da atividade de biomarcadores. Assim, é ideal para a detecção de doenças em estágios iniciais e um viés para o desenvolvimento de tecnologias para o diagnóstico salivar, dentre eles, o imunológico.⁽³⁾

Devido a algumas particularidades que envolvem a amostra sorológica, a saliva apresenta cada vez mais relevância aos investigadores. Como instrumento de diagnóstico, torna-se um fluido corporal altamente desejável, sendo utilizado na realização do diagnóstico por possuir biomarcadores definitivos específicos para as doenças. Além disso, permite métodos simples e minimamente invasivos a baixo custo e por provê um diagnóstico exato, portátil e fácil de manusear.⁽⁴⁾

Atualmente, já se utiliza a saliva para a detecção de álcool e drogas ilícitas, para mensurar níveis hormonais, como, por exemplo, os níveis de estrogênio em mulheres que sofrem de desordem hormonal, endometriose e para diagnosticar vírus, como o HIV (vírus da imunodeficiência humana) e os das Hepatites.⁽⁵⁾

¹Biomédica, Faculdade Nobre de Feira de Santana (FAN). Feira de Santana-BA, Brasil.

²Biomédica, Mestre em Biotecnologia. Docente da Faculdade Nobre de Feira de Santana (FAN). Feira de Santana-BA, Brasil; Orientadora do artigo.

Instituição: Faculdade Nobre de Feira de Santana (FAN). Feira de Santana-BA, Brasil.

Recebido em 05/11/2020

Aprovado em 14/01/2021

DOI: 10.21877/2448-3877.202000896

Portanto, o presente trabalho visa descrever sobre a utilização de saliva como amostra biológica para exames imunológicos, correlacionando a facilidade da obtenção das amostras salivares, os níveis de analitos determinados e a sensibilidade desse método em relação a outras amostras biológicas.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente artigo é uma revisão literária integrativa, descritiva e qualitativa, que possibilitou uma abordagem ampla sobre a utilização de saliva para as análises clínicas, descrevendo-se as suas características e expondo a utilização da saliva como amostra biológica para o diagnóstico laboratorial.

Para isso, foi feita uma busca de artigos científicos através dos bancos de dados: Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), Sistema Online de Busca e Análise de Literatura Médica (MEDLINE), disponíveis na Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) e no PubMed através do Centro Nacional de Informações sobre Biotecnologia (NCBI), utilizando-se das terminologias cadastradas nos Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) nos idiomas português e inglês, sendo estas: saliva (*saliva*); biomarcadores (*biomarkers*); diagnóstico (*diagnosis*). Assim, foram selecionados artigos de 2010 a 2019, e, por ser um tema promissor, os artigos encontrados na literatura sobre a temática foram publicados nesse recorte temporal.

A coleta de dados inicialmente foi realizada a partir de uma leitura exploratória onde se analisou de forma rápida o potencial dos artigos, e os classificou de acordo com o inte-

resse para esta revisão. Os seguintes critérios de inclusão foram estabelecidos: artigos científicos na língua inglesa e portuguesa com disponibilidade eletrônica para visualização do texto completo, artigos publicados nos anos de 2010 a 2019 que abordam a temática de utilização da saliva para o diagnóstico laboratorial.

Em contrapartida, os critérios de exclusão foram: artigos científicos com mais de dez anos de publicação, monografias, teses e artigos que abordam a temática de saliva sem especificação para utilização ou associação ao diagnóstico laboratorial. Posteriormente, foi realizada uma leitura seletiva que teve como objetivo um maior aprofundamento no conteúdo de cada artigo selecionado, construindo-se um agregado que serviu de embasamento para o registro de informações extraídas desses artigos, que foram discutidas e forneceram a elaboração da temática desta revisão.

Foram encontrados 238 artigos. Em seguida, foi realizada a leitura dos títulos e resumos dos materiais encontrados, excluindo-se um total de 213 artigos, sendo um duplicado e 212 por não atenderem aos objetivos da pesquisa. Para escolha analítica dos artigos foram pontuados os seguintes critérios: ano de publicação, tipo de estudo, classificação do artigo e a temática abordada.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre os 25 artigos incluídos no presente trabalho, para melhor compreensão dos dados foi elaborada a Tabela 1, que descreve os respectivos ítems dos artigos de maior relevância por ordem cronológica: autor, ano, principais resultados e conclusão.

Tabela 1 - Artigos selecionados de maior relevância para construção desse trabalho (Parte 1)

Autores	Ano	Principais Resultados	Conclusão
Lee, Wong.	2010	A saliva tem capacidade de avaliar estados fisiológicos, detectar o início e a progressão da morbidade e monitorar os resultados terapêuticos pós-tratamento através de uma abordagem não invasiva.	A descoberta de biomarcadores salivares e o desenvolvimento de diagnósticos salivares agora e no futuro.
Henson, Wong.	2010	A saliva é um espelho do corpo, refletindo todo o espectro de estados normais e de doença e seu uso como fluido de diagnóstico atende às demandas por ser um sistema barato, não invasivo e acessível como uma ferramenta de diagnóstico local e sistêmica.	O avanço da tecnologia permitiu estudos de alto rendimento a serem realizados em uma escala não realizada anteriormente e está servindo para a descoberta e validação de biomarcadores de doenças salivares.
Oliveira Júnior e Guerra.	2010	A saliva apresenta compostos do sistema imunológico tanto do próprio sítio oral, como também de outros sítios orgânicos distantes.	A utilidade dessa nova abordagem depende da sensibilidade, especificidade, assim como a reprodutibilidade dos métodos e resultados, visando estabelecer critérios de controle de qualidade.
Curvelo, Ferreira, Gonçalves, Bertolini E Fernandes.	2010	As alterações sistêmicas alteram o funcionamento das glândulas salivares de forma direta ou indireta. Estas alterações, ao serem detectadas e mensuradas na composição final da saliva, podem contribuir para o diagnóstico e detecção precoce dessas doenças, como por exemplo a Fibrose Cística.	Dentre as mais variadas aplicações diagnósticas da saliva, pode-se destacar a confirmação de desordens hereditárias, a identificação e o monitoramento de alterações imunológicas, o diagnóstico de processos infecciosos e o controle e monitoramento dos níveis hormonais.

Tabela 1 - Artigos selecionados de maior relevância para construção desse trabalho (Continuação)

Autores	Ano	Principais Resultados	Conclusão
Sebastien Farnaud, Kosti, Getting, Renshaw.	2010	Explorar a saliva como marcador de diagnóstico para câncer através de biomarcadores foi observado a detecção direta e indireta de infecções patogênicas da saliva humana.	O sucesso da saliva provavelmente dependerá da introdução de dispositivos de diagnóstico móveis que tenham a capacidade de medir múltiplos analitos de forma rápida, e o custo-benefício.
Lima, Diniz, Moimaz, Sumida, Okamoto.	2010	Esses analitos que podem viajar da circulação à saliva é uma ferramenta útil, pois pode fornecer biomarcadores específicos para uma doença particular.	A expectativa para o futuro é identificar características distintas entre analitos que podem mover-se para saliva da circulação e analitos que não podem obter em saliva.
Pfaffe, Cooper-White, Beyerlein, Kostner, Punyadeera.	2011	Foi estudado potencial diagnóstico da saliva em relação às doenças prevalentes nos países ocidentais e no mundo em desenvolvimento, como doença cardiovascular por exemplo o infarto agudo do miocárdio que pode ser monitorado através da saliva.	Algumas nanotecnologias demonstraram ter a sensibilidade analítica exigida para o uso de saliva como um meio de diagnóstico para detectar e prever a progressão da doença. No entanto, essas tecnologias ainda não foram integradas na prática clínica atual e no trabalho fluxo.
Ching, Burbelo, Gonzalez-Begne, Roberts, Coca, Sanz E Iadarola.	2011	A síndrome de Sjogren é um distúrbio autoimune crônico, principalmente afetando as glândulas salivares e lacrimais. O seu diagnóstico pode ser feito através de biomarcadores salivares.	A capacidade de examinar esses anticorpos na saliva pode trazer informações sobre a causa e sintomas relacionados à infecção.
Corstjens, Abrams, Malamud.	2012	A transmissão de infecção viral humana pode ocorrer através de múltiplos caminhos e o diagnóstico salivar pode auxiliar na pesquisa de antígenos e anticorpos.	Os anticorpos são conhecidos por serem detectáveis no sangue, eles também serão encontrados na saliva, embora de menor concentração.
Yoshizawa, Schafer, Schafer, Farrell, Paster, Wong.	2013	Biomarcadores microbianos, imunológicos e moleculares baseados em saliva oferece oportunidade para avaliar a condição de indivíduos saudáveis e doentes.	Para determinar a eficácia do diagnóstico salivar, é preciso considerar dois pontos importantes: sensibilidade, especificidade e eficácia.
Wang, Liang, Wang, Cui, Liu, Du, Xu.	2013	As proteínas podem se mover da circulação sanguínea para as glândulas salivares. Isso permitirá pesquisas direcionadas para biomarcadores eficazes na saliva usando técnicas baseadas em anticorpos.	É possível desenvolver uma ferramenta, que de alguma forma venha fornecer informação útil e mais confiável para o diagnóstico salivar.
Macdonald, Ghani, Wan, Cooper-White, Dimeski e Punyadeera.	2014	As medições de imunoglobulinas salivares são utilizados como indicadores para determinar e avaliar a imunidade do ser humano em determinadas patologias.	Este estudo também mostrou a influência significativa de diferentes métodos de estimulação, ilustrando a importância da necessidade de componentes pré-analíticos padronizados.
Zhang, Sun, Lin, Abemayor, Wang, Wong.	2014	Um fluido corporal altamente desejável, sendo utilizada na realização do diagnóstico por possuir biomarcadores definitivos específicos para as doenças, métodos simples minimamente invasivos a baixo custo e por prover um diagnóstico exato, portátil e fácil de manusear.	O desenvolvimento de tecnologia de alto rendimento desvelando uma compreensão avançada da saliva como um reflexo da condição de todo o corpo.
Shantala Arunkumar, Arunkumar, Burde, Shakuntala.	2014	A utilização da saliva se expandiu para a detecção de câncer, doenças cardíacas e infecciosas, presença de drogas ilícitas, álcool, para medir os níveis hormonais.	A saliva é uma ferramenta muito útil para programas de rastreamento de base populacional, diagnóstico confirmatório, estratificação de risco, determinação de prognóstico e monitoramento da resposta terapêutica.
Malathi, Mythili, Vasanthi.	2014	O diagnóstico salivar é uma grande promessa para doenças como câncer, doenças cardiovasculares, metabólicas e neurológicas. As vantagens da saliva como ferramenta clínica sobre soro e tecidos.	A saliva tem sido vista como um importante fluido diagnóstico por identificar os biomarcadores da doença e transferi-los do laboratório para o clínico.
Sun, Du, Zhou, Zhou, Cao, Tian e Wang.	2015	O diagnóstico salivar pode auxiliar na detecção precoce e no rastreamento de certos tumores malignos e contribui no monitoramento da eficácia do tratamento de cânceres de próstata, pescoço e cabeça, mama, oral, entre outros.	Com o progresso contínuo da tecnologia proteômica, o diagnóstico salivar se tornou um tópico de pesquisa que ganha cada vez mais atenção e ao se referir em eficácia, a saliva tem sido muito visada em relação aos estudos para sensibilidade e especificidade dos testes.
Zolotukhin.	2015	Através da saliva pode-se dosar hormônios variados, como cortisol, testosterona, melatonina, estradiol, entre outros.	Os receptores dos hormônios metabólicos salivares são expressos em glândulas salivares ou em células da mucosa oral.

Tabela 1 - Artigos selecionados de maior relevância para construção desse trabalho (Continuação)

Autores	Ano	Principais Resultados	Conclusão
Andries, Duong ¹ , Ong, Ros, Sakuntabhai, Horwood, Dussart, Buchy.	2016	A dengue é uma doença viral transmitida pelo mosquito <i>Aedes aegypti</i> comum em todo o mundo. A saliva pode auxiliar no diagnóstico precoce da dengue através de biomarcadores.	Estudos mostram que se pode detectar biomarcadores de dengue em amostras de saliva. A análise pode ser feita de forma direta e indireta.
Galloway, Keijser, Williams.	2016	Uma amostra de saliva pode ser particularmente útil para estudar biomarcadores associados a doenças orais. O câncer oral, por exemplo o carcinoma epidermóide de boca (CCEO), progride desde a hiperplasia até displasia de graus variados. Uma amostra de saliva pode estudar biomarcadores associados ao câncer oral.	Vários mediadores da resposta inflamatória (incluindo citocinas, prostaglandinas e vários crescimento fatores) pode ser prontamente detectado na saliva. O número de biomarcadores salivares está aumentando rapidamente e muitos desses marcadores parecem ser únicos à saliva.
Milanowski, Pomastowski, Ligor, Buszewski.	2016	A coleta salivar pode ser realizada de duas formas: estimulada e não estimulada. Além de constituintes de peso molecular mais elevado, contém compostos orgânicos voláteis que podem ter origem em fontes como sangue ou ser resultado de metabolismo bacteriano.	A saliva é um dos fluidos corporais, possuindo várias vantagens sobre os demais espécimes, isso faz da saliva uma ferramenta clínica atraente, no entanto, não é frequentemente investigado quando se obtém perfis voláteis.
Proctor	2016	Considerada um biofluido acessível, a saliva limpa substâncias da boca, tampões pH, mantém a mineralização dos dentes, neutraliza alguns componentes nocivos da dieta, influencia o microbioma bucal e protege, lubrifica e hidrata as superfícies mucosas orais.	Há uma enorme riqueza de potenciais biomarcadores salivares, incluindo muitas proteínas, mRNA e RNA não codificante, e microbiana componentes com muitas aplicações potenciais.
Chojnowska, Baranb, Wilinskac, Sienickad, Cabaj-Wiatere, Knasa.	2017	A saliva contém numerosas células, muitos orgânicos, substâncias inorgânicas, bem como drogas e seus metabólitos são secretados em saliva. A coleta salivar é indolor, fácil, barata, e completamente segura para pacientes e profissionais de saúde	Considera-se que a saliva é recomendada como excelente material para diagnósticos bioquímicos, toxicológicos, imunológicos e doenças sistêmicas.
Ngamchuea, Chaisiwamongkhol, Batchelor-Mcauley E Compton.	2017	O teste de saliva oferece vantagens sobre a análise de sangue, em parte devido à sua natureza não invasiva, a facilidade de coleta, armazenamento e envio de espécimes, bem como a possibilidade de várias amostras.	A saliva contém vários biomarcadores potenciais que exibem fortes correlações com as concentrações no plasma sanguíneo ou soro, seu uso como um fluido diagnóstico.
Gröschl.	2017	A saliva é composta pela secreção das glândulas salivares e pelo fluido crevicular gengival, e tem sido visada como uma matriz de amostra bioanalítica.	Pesquisadores consideram saliva como não-invasiva e livre de estresse alternativa à amostragem de sangue e pode ser uma alternativa útil para determinar muitos parâmetros.
Bessonneau, Pawliszyn e Rappaport	2017	Diversos estudos avaliaram a correlação entre saliva e concentrações sanguíneas para compostos com diversas propriedades físicas e químicas.	Embora o número de metabólitos detectados na saliva é menor do que no sangue, as melhorias analíticas irão revelar muitos metabólitos salivares.

PRODUÇÃO E OBTENÇÃO DA SALIVA

A saliva é um fluido biológico levemente ácido, composto pela secreção das glândulas salivares e pelo fluido crevicular gengival. Através do fluido crevicular gengival, pode-se encontrar derivados do sangue, células epiteliais descamadas, leucócitos, bactérias, vírus e outros componentes celulares. A sua produção normalmente é de um litro por dia, sendo seu principal elemento a água. Os constituintes presentes na saliva passam através da difusão intracelular trazendo uma abundância de hormônios, proteínas e outros produtos químicos que relevam o estado fisiológico do corpo.⁽⁶⁾

As glândulas salivares são divididas em extrínsecas e intrínsecas. As extrínsecas são: glândulas parótidas, encontradas nos dois lados da face, abaixo das orelhas. As glândulas submandibulares que se encontram na parte interna da mandíbula. Elas secretam a saliva sob a área da língua e as glândulas sublinguais que são encontradas sob o assoalho da boca e por baixo da língua. As glândulas salivares intrínsecas são predominantemente glândulas secretoras de muco. O fluxo salivar é controlado pelo sistema nervoso autônomo, que através dos nervos cranianos, as glândulas são supridas.⁽⁷⁾

Esse fluido biológico possui uma variedade de funções, que envolve tanto a saúde bucal como a homeostase.

As cinco principais são: lubrificação e proteção, tamponamento, manutenção da integridade do dente, atividade antibacteriana, sabor e digestão no processo de alimentação e protetora da mucosa oral.⁽⁸⁾ Auxilia na defesa contra microrganismos patogênicos, na presença de diferentes proteínas que reagem em formas específicas (imunoglobulinas) ou inespecíficas (lisozima, peroxidase, cistatinas, lactoferrina, histatinas e outras), inibindo o crescimento de microrganismos e atualmente vem sendo descoberta como uma alternativa de amostra biológica para diagnóstico.⁽⁹⁾

A coleta salivar pode ser realizada de duas formas: estimulada (pela mastigação de um pedaço de parafina ou pela ingestão de ácido cítrico ou ácido acético) e não estimulada (pode ser coletada pelo método de baba, cuspir, esfregar ou aspirar). O principal método de coleta comercializado é o uso do Salivette®, em um algodão colocado na boca, onde será umedecido através da mastigação e depois submetido à centrifugação para recuperar a saliva mista para análise.⁽¹⁰⁾

A obtenção da saliva é método de baixo custo por não necessitar de material laboratorial específico como ocorre com o sangue, mas, para se utilizar essa nova abordagem, é preciso determinar os parâmetros de sensibilidade, especificidade e a sua correlação com critérios diagnósticos já estabelecidos, assim como a reprodutibilidade dos métodos e resultados, visando estabelecer critérios de controle de qualidade.⁽¹¹⁾

ANALITOS DETERMINADOS POR MEIO DE EXAMES SALIVARES

Já foi relatado que é possível a aplicação diagnóstica utilizando-se a saliva como matriz de análise, dentre elas a comprovação das seguintes condições: doença hereditária, doenças orais, doenças sistêmicas, doença autoimune, malignidade, infecção, monitoramento dos níveis de hormônios, minerais e drogas. Tratando-se de exames imunológicos, o diagnóstico salivar é realizado por meio da pesquisa de antígeno e/ou anticorpo.⁽⁵⁾

Fibrose Cística é um exemplo de doenças hereditárias que pode ser diagnosticada através da saliva. Trata-se de uma desordem genética onde o gene defeituoso que está presente no cromossomo 7, codifica uma proteína chamada Regulador de Condução Transmembrana da Fibrose Cística (RCTFC), originando assim um eletrólito defeituoso de transporte nas células epiteliais, que resulta em secreções de muco viscoso das glândulas e epitélios. As glândulas sudoríparas, os pulmões e o pâncreas são os órgãos mais acometidos. O diagnóstico é estabelecido através de características clínicas e da análise da concentração dos eletrólitos, que vão estar elevados na saliva. Os analitos são: eletrólitos (sódio, cloreto, cálcio e fósforo), ureia e ácido úrico, proteína total e lipídios.⁽¹²⁾

Um exemplo de doença oral mais recorrente é o câncer oral, predominantemente o carcinoma epidermoide de boca (CCEO), que progride desde a hiperplasia até displasia de graus variados. Uma amostra de saliva pode estudar biomarcadores associados ao câncer oral. A identificação de biomarcadores como o TP53 e mutação do gene *p53* nas células da saliva complementam os achados clinicopatológicos, que podem ajudar a classificar o paciente em risco, prever a progressão da doença e auxiliar no tratamento.^(13,14)

Infarto agudo do miocárdio (IAM) é uma condição sistêmica, sendo classificada como uma doença cardiovascular. O IAM está associado ao depósito de lipídios no revestimento de artérias. Para monitorar os riscos dessa condição, pode-se realizar por meio da saliva as dosagens de proteína C reativa (PCR) e troponina cardíaca juntamente com evidências de isquemia.⁽¹⁵⁾

A Síndrome de Sjogren é uma doença autoimune crônica, caracterizada por disfunção nas glândulas salivares e lacrimais. O exame utilizando a saliva é o menos invasivo para se obter o diagnóstico dessa doença. Esse teste consiste na detecção de autoanticorpos são SSA e SSB, que conseguem ser identificados através do ELISA, portanto, alterações no perfil salivar dessas citocinas podem ser úteis no diagnóstico, bem como no controle de sua progressão.⁽¹⁶⁾

O câncer é o crescimento desordenado de células que apresentam um maior grau de autonomia com tendência a invadir tecidos e órgãos vizinhos podendo assim provocar metástase. O diagnóstico salivar pode auxiliar na detecção precoce e no rastreamento de certos tumores malignos e contribui no monitoramento da eficácia do tratamento, e as seguintes proteínas podem ser coletadas da saliva para diagnóstico e prognóstico de alguns tipos de câncer, como a proteína CA15-3 do câncer de mama, a PSA para o câncer de próstata, proteína CDD44 para câncer de cabeça e pescoço, onde os níveis de mRNA estarão elevados, proteína CA199 para câncer pancreático, entre outros.⁽¹⁷⁾

Helicobacter pylori é uma bactéria que pode causar infecção bacteriana e pode ser detectada e transmitida pela saliva. O local de desenvolvimento dessa bactéria é na camada mucosa protetora do revestimento gástrico. Seu principal acometimento está associado a úlcera péptica e gastrite crônica. Para auxiliar o seu diagnóstico, pode ser feita uma coleta salivar que irá detectar a presença da bactéria através do DNA de *H. pylori*.⁽⁵⁾

O fluido salivar tem em sua composição hormônios livres, que podem ser dosados e quantificados facilmente, fornecendo um resultado mais específico dos hormônios que estão disponíveis biologicamente para os nossos tecidos, ou seja, prontos para serem utilizados pelo nosso corpo. Dentre os hormônios que podem ser dosados, se destacam: androstenedioma, cortisol, dehidroepiandrosterona, melatonina, estradiol, progesterona e testosterona.⁽¹⁸⁾

A transmissão de infecção viral humana pode ocorrer através de múltiplos caminhos, como a ingestão de alimentos e bebidas contaminados, contato sexual, exposição ao sangue infectado, troca de saliva ou aerossóis gerados por espirros ou tosse. O diagnóstico é feito por triagem baseada em imunoenaios utilizando anticorpos e antígenos, tendo como exemplo de métodos utilizados: os testes rápidos, ELISA, *Western blotting* e PCR (reação em cadeia da polimerase). Como exemplo de infecção viral, destaca-se o HIV, que pode ser realizado com amostra salivar. Esse teste detecta o vírus através dos antígenos p24 e anticorpos contra o HIV-1 e o HIV.^(1,19) Atualmente já é comercializado teste rápido para detecção do HIV-1 através de anticorpos orais e tem alta sensibilidade e especificidade, chegando a 99,4%.

Tabela 2 - Analitos presentes na saliva para auxílio do diagnóstico da fibrose cística

Fibrose Cística	
Analito	Alteração
Sódio	Aumento da concentração
Cloreto	Aumento da concentração
Cálcio	Aumento da concentração
Fosfato	Aumento da concentração
Ureia	Aumento da concentração
Ácido úrico	Aumento da concentração
Proteínas totais	Aumento da concentração
Lípidios	Aumento da concentração

Tabela 3 - Analitos presentes na saliva para cânceres

Cânceres	
Analito	Alteração
Oral - TP53	Presença
Oral- Gene p53	Mutação de célula da saliva
Mama - Proteína CA15-3	Presença
Próstata – PSA	Presença
Pâncreas – Proteína CA199	Presença
Cabeça e pescoço – Proteína CDD44	Presença
Cabeça e pescoço – mRNA	Aumento de concentração

Tabela 4 - Analitos presentes na saliva para auxílio do diagnóstico do infarto agudo do miocárdio

Infarto Agudo do Miocárdio		
Analito	Alteração	Valor de Referência
PCR	aumento da concentração	5-600 ng / L
Troponina	aumento da concentração	-

Tabela 5 - Analitos presentes na saliva para auxílio do diagnóstico da síndrome de Sjogren

Síndrome de Sjogren	
Analito	Alteração
Autoanticorpo SSA	Presença
Autoanticorpo SSB	Presença

Tabela 6 - Analitos presentes na saliva para auxílio do diagnóstico de doenças infecciosas

Doenças Infecciosas	
Analito	Alteração
DNA - Bactéria <i>H. pylori</i>	Presença
Anticorpo HIV - 1	Presença
Anticorpo HIV - 2	Presença
ANTÍGENO p24 - HIV	Presença
IgM Específico - Dengue	Reagente
IgG Específico - Dengue	Reagente
IgM Específico - Hepatite	Reagente
IgG Específico - Hepatite	Reagente
DNA - quantificação - Hepatite	Presença
IgM Específico - Rubéola	Reagente
IgG Específico - Rubéola	Reagente

A saliva possui biomarcadores eficazes para o diagnóstico da dengue, que é uma doença viral transmitida pelo mosquito *Aedes aegypti*. A análise pode ser feita de forma direta, onde a técnica será o isolamento do antígeno da dengue (DENV). E pode ser feita de forma indireta, usando-se métodos para detecção de imunoglobulina G (IgG) e imunoglobulina M (IgM) da dengue. Esses testes de diagnóstico rápido foram elaborados com a intenção de auxiliar os médicos na descoberta da patologia para que possam definir uma ação terapêutica.⁽²⁰⁾

Hepatite é uma infecção viral que acomete os hepatócitos. Existem três tipos principais: hepatite A (HAV), hepatite B (HBV) e hepatite C (HCV). O diagnóstico da HAV e HBV é baseado na presença de anticorpos IgM na saliva, e é utilizado DNA para quantificar o nível de vírus no corpo. Já a rubéola é uma doença infectocontagiosa causada pelo *Togavirus*. Assim como a hepatite, a rubéola pode ser detectada na saliva através do IgM.⁽⁵⁾

SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE ANALÍTICA DOS EXAMES SALIVARES

A utilização da saliva para o meio diagnóstico, de modo recente, passou a ser mais abrangente, devido à combinação de biotecnologias emergentes e diagnósticos salivares. Um grande número de biomarcadores na saliva é gradualmente detectado e alguns deles permitem o diagnóstico de diferentes doenças, incluindo doenças autoimunes e doenças virais.⁽²⁾

Para se diagnosticar uma infecção viral, é preciso detectar anticorpos ou antígenos que estão ativando a ação do sistema imune. E esses marcadores podem ser encontrados na saliva, o que caracteriza um relevante meio para o diagnóstico das infecções virais.⁽⁸⁾ Porém, para este método ser considerado pertinente é preciso identificar a sensibilidade e especificidade analítica desses exames,

como, por exemplo, os riscos de testes falso-positivos ou falso-negativos.

Para se determinar a eficácia do diagnóstico salivar, é preciso considerar três pontos importantes. O primeiro é que os testes precisam de especificidade, que é a capacidade de detectar os verdadeiros negativos, ou seja, diagnosticar corretamente os indivíduos saudáveis. O segundo é a sensibilidade, que é a capacidade dos testes de diagnosticar os indivíduos verdadeiramente positivos, ou seja, diagnosticar corretamente os doentes. Já o terceiro ponto é que os biomarcadores devem refletir o estado de saúde, sua regressão ou erradicação, ou seja, à medida que a condição do paciente melhora, a concentração ou detecção dos biomarcadores correspondentes deve diminuir.⁽²¹⁾

Testes epidemiológicos demonstraram que, para exames imunológicos, a saliva possui uma sensibilidade e especificidade igual ou superior ao soro para determinados biomarcadores. Temos como exemplo testes para hepatites, rubéola, dengue e outros vírus que possibilitaram o diagnóstico laboratorial através das imunoglobulinas.⁽¹⁵⁾ Na maioria dos diagnósticos imunológicos, são utilizados métodos como testes rápidos para se obter um resultado imediato, e métodos mais específicos como ELISA e *Western Blotting*.⁽⁹⁾

A eficácia de cada dosagem é identificada pela sensibilidade e especificidade do teste. Temos como exemplo o HIV, no qual é comprovada uma sensibilidade e especificidade de 99,4% por meio do teste rápido.⁽⁵⁾ O câncer de cabeça e pescoço com 84,35% de sensibilidade e 91,91% de especificidade.⁽¹⁷⁾ Já a síndrome de Sjogrens obteve a sensibilidade e especificidade de 89% e 92% respectivamente.⁽⁴⁾ Rubéola com 96%, dengue com 92% e hepatite C com 97,5% de sensibilidade pelo método PCR.^(5,21)

Em seu trabalho, Bessonneau e colaboradores avaliaram um caso controle onde seu objetivo era encontrar associação de metabólitos, presentes na saliva, com certas patologias. O estudo foi realizado com um grupo de pessoas que já sofreram exposição dos metabólitos de estudo, ou seja, esses metabólitos são resultado de fatores externos que causam doenças em seres humanos quando há exposição. Por exemplo, tem-se o fenilacetato de éster de ácido carboxílico, identificado devido às suas atividades antiproliferativas em células de câncer de mama. Esse metabólito encontrado na saliva mostra influência de hormônios em diferentes fases do desenvolvimento das mulheres.⁽²²⁾

MacDonald e colaboradores realizaram um estudo de caso para avaliar as concentrações e os tipos de proteínas presentes na saliva que podem variar com base no tipo de saliva coletada (não estimulação ou estimulação por meios ácidos). Em consequência houve uma avaliação complementar do ritmo circadiano, paladar e estado da doença. Este

estudo também mostrou a influência significativa de diferentes métodos de estimulação, ilustrando a importância da necessidade de componentes pré-analíticos padronizados, portanto é essencial que essas variáveis sejam consideradas e que o método de coleta de saliva seja padronizado antes que a saliva possa ser implementada como amostra para diagnóstico.⁽²³⁾

O sangue é a principal amostra para realização de exames, porém pesquisadores estão descobrindo inúmeras vantagens da saliva como ferramenta de diagnóstico para exames imunológicos. A principal vantagem é a facilidade para se obter a amostra, diminuindo o desconforto associado à coleta sanguínea e a necessidade de uma recoleta. Além disso, o método é de baixo custo por não necessitar de material laboratorial específico para coleta como ocorre com o sangue e é a dosagem de forma ativa, pois a saliva é um fluido em tempo real.⁽⁵⁾

A saliva pode ser considerada o “espelho do corpo” por refletir aproximadamente todo estado fisiológico do corpo, como também de doenças, tornando-se um fluido satisfatório, simplificado e que oferece a segurança para os profissionais de saúde quanto ao seu prognóstico e diagnóstico.⁽⁶⁾

Devido à saliva ser repleta em proteínas e moléculas genéticas, alguns pesquisadores a consideram ideal para a detecção de doenças em estágios iniciais através da exploração de biomarcadores e desenvolvimento de tecnologias para o diagnóstico salivar, tornando-se clinicamente esclarecedor por serem filtradas, processadas e secretadas a partir das glândulas salivares.⁽¹⁾

A principal desvantagem da saliva em relação ao soro é a intercorrência dos valores de referência encontrados no fluido salivar. A maioria dos compostos estudados no soro já é bem documentada e possuem uma condição estável em relação à sua utilidade e fidedignidade. A variação dos valores de referência desses compostos no soro se mantém em uma faixa estreita, entretanto o mesmo não acontece na saliva, o que dificulta a elaboração de valores padronizados desses compostos.⁽¹²⁾

Existem alguns exames no Brasil que já utilizam a saliva como amostra biológica, são eles: cortisol, dehidroepiandrosterona, melatonina, testosterona, progesterona, estradiol, amilase, imunoglobulina A e alguns minerais. Esses exames já possuem consenso e são documentados.

A expectativa para o futuro é identificar características distintas entre analitos que podem mover-se para saliva da circulação e analitos que não se podem obter em saliva. Esses analitos que podem viajar da circulação à saliva representará uma ferramenta útil, pois podem fornecer biomarcadores específicos para uma doença particular. Isso permitirá pesquisas direcionadas para biomarcadores eficazes na saliva.^(24,25)

Tabela 7 - Analitos já documentados para dosagem na saliva no Brasil

Analito	Método	Valor de Referência
Cortisol	Eletroquimioluminescência	tarde: Inferior a 0,252 ug/dL noite: Inferior a 0,274 ug/dL manhã: Inferior a 0,736 ug/dL
Deidroepiandrosterona	Enzimaimunoensaio	Homens: 21 a 30 anos: 103,9 a 578,3 pg/mL 31 a 40 anos: 116,2 a 471,8 pg/mL 41 a 50 anos: 109,1 a 475,3 pg/mL 51 a 60 anos: 86,1 a 488,0 pg/mL 60 a 75 anos: 41,8 a 184,3 pg/MI Mulheres: 21 a 30 anos: 82,5 a 496,1 pg/mL 31 a 40 anos: 75,4 a 328,5 pg/mL 41 a 50 anos: 54,4 a 412,0 pg/mL 51 a 60 anos: 43,8 a 236,1 pg/mL 60 a 75 anos: 33,8 a 229,7 pg/mL
Melatonina	Radioimunoensaio	dia: Inferior a 5,00 pg/mL noite: Superior a 10,00 pg/mL
Testosterona	Enzimaimunoensaio	Homens: 21 a 30 anos: 47,2 a 136,2 pg/mL 31 a 40 anos: 46,8 a 106,8 pg/mL 41 a 50 anos: 36,5 a 82,7 pg/mL 51 a 60 anos: 19,1 a 89,0 pg/mL 61 a 75 anos: 12,2 a 68,6 pg/mL Mulheres: 21 a 30 anos: 7,9 a 50,4 pg/mL 31 a 40 anos: Inferior 44,8 pg/mL 41 a 50 anos: Inferior 39,4 pg/mL 51 a 60 anos: Inferior 29,8 pg/mL 61 a 75 anos: Inferior 29,3 pg/mL
Progesterona	Enzimaimunoensaio	Homens: 21 a 50 anos: 12,7 a 57,4 pg/mL 51 a 75 anos: 15,2 a 65,1 pg/mL Mulheres: Fase folicular: 19,6 a 86,5 pg/mL Fase lútea: 99,1 a 332,6 pg/mL Pós-menopausa: 6,0 a 56,4 pg/mL
Estradiol	Enzimaimunoensaio	Homens: 0,60 a 3,10 pg/mL Mulheres: 19 a 50 anos: 0,60 a 6,30 pg/mL 51 a 75 anos: 0,60 a 3,10 pg/mL
Amilase	Espectrofotometria	80.000,00 a 625.000,00 U/L
Imunoglobulina A	Nefelometria	1,59 A 41,45 mg/dL

Abstract

Saliva has gained space in the laboratory because of its potential as a biological sample. For treating a real-time fluid, easy access and obtainment, saliva has been studied in order to achieve the diagnosis and prognosis of certain diseases. This is a less invasive sample, more comfortable and has lower cost. This work aims to describe the use of saliva as a kind of biological analysis for immunological tests, relating the existing analytes in saliva and the association of the disease control mechanism. The present article is an integrative review, through an analysis of 238 articles which 25 were selected. The main criteria of inclusion were scientific English and Portuguese articles, published between 2010 to 2019 of saliva's use for immunological exams. There are already tests that use a salivary analysis, although there is still the need for patterning of a reference values in analyte dosages, thus proving its biomarker detection capability. Being able to state that the use of saliva has many benefits for diagnostic analysis.

Keywords

Saliva; laboratory diagnosis; biomarkers

REFERÊNCIAS

- Malathi N, Mythili S, Vasanthi HR. Salivary Diagnostics: A Brief Review. ISRN Dent. 2014 Jan 29;2014:158786. doi: 10.1155/2014/158786. eCollection 2014.
- Chojnowska S, Baranb T, Wilinskac I, Sienickad P, Cabaj-Wiater I, Knasa M. Human saliva as a diagnostic material. Adv Med Sci. 2018 Mar;63(1):185-191. doi: 10.1016/j.advms.2017.11.002.
- Lee YH, Wong DT. Saliva: an emerging biofluid for early detection of diseases. Am J Dent. 2009 Aug;22(4):241-8.
- Zhang Y, Sun J, Lin CC, Abemayor E, Wang MB, Wong DTW. The emerging landscape of salivary diagnostics. Periodontol 2000 2016;70:38-52. doi: 10.1111/prd.12099
- Arunkumar S, Arunkumar JS, Burde KN, Shakunthala GK. Developments in diagnostic applications of saliva in oral and systemic diseases- A comprehensive review. Journal of Scientific and Innovative Research 2014; 3(3): 372-387.
- Henson BS, Wong DT. Collection, storage, and processing of saliva samples for downstream molecular applications. Methods Mol Biol. 2010;666:21-30. doi: 10.1007/978-1-60761-820-1_2.
- Proctor GB. The physiology of salivary secretion. Periodontol 2000 2016;70:11-25. doi: 10.1111/prd.12116.
- Ngamchuea K, Chaisiwamongkhol K, Batchelor-McAuley C, Compton RG. Chemical Analysis in Saliva and the Search for Salivary Biomarkers - A Tutorial Review. Analyst. 2017 Dec 18; 143(11):81-99. doi: 10.1039/c7an01571b
- Gröschl M. Saliva: a reliable sample matrix in bioanalytics. Bioanalysis 2017 Mar;9(8):1-14. doi: 10.4155/bio-2017-0010.
- Milanowski M, Pomastowski P, Ligor T, Buszewski B. Saliva - volatile biomarkers and profiles. Anal Chem Res 2016 Dec;47:251-266. doi: 10.1080/10408347.2016.1266925.
- Oliveira Junior JJ, Guerra RNM. Biomarcadores imunológicos da saliva. Rev Ciênc Saúde 2010 Dec;12(2):136-145.
- Curvelo JAR, Ferreira DC, Gonçalves EAS, Bertolini MM, Fernandes LBF. Análise da Saliva nas Desordens Sistêmicas. Rev Odontol Univ São Paulo 2010 Aug;22(2):163-73.
- Galloway JW, Keijser BJB, Williams DM. Saliva in studies of epidemiology of human disease: the UK Biobank project. Periodontol 2000 2016;70:184-95. doi: 10.1111/prd.12108.
- Farnaud SJC, Kosti O, Getting SJ, Renshaw D. Saliva: physiology and diagnostic potential in health and disease. ScientificWorldJournal 2010 Feb;10:434-456. doi: 10.1100/tsw.2010.38.
- Pfaffe T, Cooper-White J, Beyerlein P, Kostner K, Punyadeera C. Diagnostic potential of saliva: current state and future applications. Clin Chem 2011;57(5):675-87. doi: 10.1373/clinchem.2010.153767

16. Ching KH, Burbelo PD, Gonzalez-Begne M, Roberts ME, Coca A, Sanz I, Iadarola MJ. Salivary anti-Ro60 and anti-Ro52 antibody profiles to diagnose Sjögren's Syndrome. *J Dent Res*. 2011 Apr; 90(4):445-9. doi: 10.1177/0022034510390811
17. Sun Y, Du W, Zhou C, Zhou Y, Cao Z, Tian Y, Wang Y. A computational method for prediction of saliva-secretory proteins and its application to identification of head and neck cancer biomarkers for salivary diagnosis. *IEEE Trans Nanobioscience* 2015 Mar;14(2):167-74. doi: 10.1109/TNB.2015.2395143.
18. Zolotukhin S. Metabolic hormones in saliva: origins and functions. *Oral Dis*. 2013 Apr; 19(3): 219–229. Published online 2012 Sep 21. doi: 10.1111/odi.12015
19. Corstjens PL, Abrams WR, Malamud D. Detecting viruses by using salivary diagnostics. *J Am Dent Assoc*. 2012 Oct;143(10 Suppl):12S-8S. doi: 10.14219/jada.archive.2012.0338
20. Andries AC, Duong V, Ong S, Ros S, Sakuntabhai A, Horwood P, et al. Evaluation of the performances of six commercial kits designed for dengue NS1 and anti-dengue IgM, IgG and IgA detection in urine and saliva clinical specimens. *BMC Infect Dis* 2016;16(201):1-9. doi: 10.1186/s12879-016-1551-x.
21. Yoshizawa JM, Schafer CA, Schafer JJ, Farrell JJ, Paster BJ, Wong DT. Salivary biomarkers: toward future clinical and diagnostic utilities. *Clin Microbiol Rev*. 2013 Oct;26(4):781-91. doi: 10.1128/CMR.00021-13.
22. Bessonneau V, Pawliszyn J, Rappaport SM. The Saliva Exposome for Monitoring of Individuals Health Trajectories. *Environ Health Perspect*. 2017 Jul 20;125(7):077014. doi: 10.1289/EHP1011.
23. Wang J, Liang Y, Wang Y, Cui J, Liu M, Du W, Xu Y. Computational prediction of human salivary proteins from blood circulation and application to diagnostic biomarker identification. *PLoS One*. 2013 Nov 12;8(11):e80211. doi: 10.1371/journal.pone.0080211
24. Lima DP, Diniz DG, Moimaz SA, Sumida DH, Okamoto AC. Saliva: reflection of the body. *Int J Infect Dis* 2010;14:184-8. doi: 10.1016/j.ijid.2009.04.022.
25. MacDonald M, Ghani NA, Wan Y, Cooper-White J, Dimeski G, Punyadeera C. Profiling of immunoglobulins in resting and mechanically stimulated saliva. *Bioanalysis* 2014 Mar;6(5):697-704. doi: 10.4155/bio.14.21

Correspondência

Ana Paula Rios Santana de Oliveira
Faculdade Nobre de Feira de Santana- FAN
Av. Maria Quitéria, 2116 - Centro
44001-008 – Feira de Santana-BA, Brasil