

Avaliação da saliva como amostra alternativa para a detecção do SARS-CoV-2

Evaluation of saliva as an alternative sample for SARS-CoV-2 detection

Evaluación de la saliva como muestra alternativa para la detección del SARS-CoV-2

Recebido: 26/07/2024 | Revisado: 11/08/2024 | Aceitado: 12/08/2024 | Publicado: 15/08/2024

Felipe Gonçalves Bezerra

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2795-9815>
Universidade de Pernambuco, Brasil
E-mail: felipebiomedicina@gmail.com

João Felipe Bezerra

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9978-628X>
Universidade Federal da Paraíba, Brasil
E-mail: jfb_rn@hotmail.com

Romero Henrique Teixeira Vasconcelos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1195-5414>
Universidade Federal da Paraíba, Brasil
E-mail: romerohenriquevasconcelos@gmail.com

Ana Carolina Bernardes Dulgheroff

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2126-8623>
Universidade Federal da Paraíba, Brasil
E-mail: acbd@academico.ufpb.br

Ronaldo Rodrigues Sarmiento

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0054-7682>
Universidade Federal da Paraíba, Brasil
E-mail: ronaldo.sarmiento@academico.ufpb.br

Betânia Maria Pereira dos Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7916-1995>
Universidade Federal da Paraíba, Brasil
E-mail: betania.santos@academico.ufpb.br

Maria Soraya Pereira Franco Adriano

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7888-4430>
Universidade Federal da Paraíba, Brasil
E-mail: msorayapf@hotmail.com

Resumo

O objetivo deste estudo é avaliar a eficácia da saliva como amostra alternativa para a detecção do SARS-CoV-2 em profissionais de saúde e pacientes atendidos em um hospital universitário na cidade de João Pessoa, no estado da Paraíba, comparando os resultados com amostras coletadas por swab nasofaríngeo (SNF). O estudo recrutou 365 participantes adultos, assintomáticos para COVID-19. A reação em cadeia da polimerase em tempo real de transcrição reversa (RT-qPCR) foi realizada visando o gene E do SARS-CoV-2. Para as análises estatísticas, foi utilizado o software SPSS. A concordância entre os dois métodos foi avaliada com o teste Kappa. Das 365 amostras analisadas, 45 (12,3%) tiveram detecção em pelo menos um tipo de amostra. Em SNF e saliva, 21 amostras (46,7%) foram positivas, enquanto 14 amostras (31,1%) foram positivas apenas para SNF e 10 amostras (22,2%) foram positivas apenas em saliva. Usando amostras de SNF como padrão-ouro de referência, a sensibilidade e especificidade da saliva foram de 60% e 97%, respectivamente, enquanto os valores preditivos positivo e negativo foram de 68% e 96%, respectivamente. A acurácia foi de 93,0% e o coeficiente Kappa foi de 0,596, indicando uma concordância moderada. Embora o coeficiente Kappa tenha indicado uma concordância moderada nesse estudo, as amostras de saliva pura foram semelhantes às obtidas por SNF. A simplicidade da coleta, a escassez de EPI e a transmissibilidade do vírus favorecem a autocoleta da saliva como testes mais precisos, levando à redução do tempo de espera e à disponibilização mais rápida dos resultados.

Palavras-chave: Excreção salivar; Teste de ácido nucleico para COVID-19; Vírus SARS-CoV-2.

Abstract

The objective of this study is to evaluate the efficacy of saliva as an alternative sample for detecting SARS-CoV-2 in healthcare professionals and patients treated at a university hospital in the city of João Pessoa, in the state of Paraíba, by comparing the results with samples collected by nasopharyngeal swab (NPS). The study recruited 365 adult participants who were asymptomatic for COVID-19. Reverse transcription real-time polymerase chain reaction (RT-qPCR) targeting the E gene of SARS-CoV-2 was performed. For statistical analyses, SPSS software was used. The agreement between the two methods was assessed using the Kappa test. Of the 365 samples analyzed, 45 (12.3%) showed detection in at least one type of sample. In NPS and saliva, 21 samples (46.7%) were positive, while 14 samples

(31.1%) were positive only for NPS and 10 samples (22.2%) were positive only in saliva. Using NPS samples as the reference gold standard, the sensitivity and specificity of saliva were 60% and 97%, respectively, while the positive and negative predictive values were 68% and 96%, respectively. The accuracy was 93.0%, and the Kappa coefficient was 0.596, indicating moderate agreement. Although the Kappa coefficient indicated moderate agreement in this study, pure saliva samples were similar to those obtained by NPS. The simplicity of collection, the scarcity of PPE, and the transmissibility of the virus favor self-collection of saliva as a more accurate test, leading to a reduction in wait times and faster availability of results.

Keywords: Salivary excretion; Nucleic acid test for COVID-19; SARS-CoV-2 Virus.

Resumen

El objetivo de este estudio es evaluar la eficacia de la saliva como muestra alternativa para la detección del SARS-CoV-2 en profesionales de la salud y pacientes atendidos en un hospital universitario en la ciudad de João Pessoa, en el estado de Paraíba, comparando los resultados con muestras recolectadas por hisopado nasofaríngeo (SNF). El estudio reclutó a 365 participantes adultos, asintomáticos para COVID-19. Se realizó la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real con transcripción inversa (RT-qPCR) dirigida al gen E del SARS-CoV-2. Para los análisis estadísticos, se utilizó el software SPSS. La concordancia entre los dos métodos fue evaluada con la prueba de Kappa. De las 365 muestras analizadas, 45 (12,3%) mostraron detección en al menos un tipo de muestra. En SNF y saliva, 21 muestras (46,7%) fueron positivas, mientras que 14 muestras (31,1%) fueron positivas solo para SNF y 10 muestras (22,2%) fueron positivas solo en saliva. Usando muestras de SNF como el estándar de referencia, la sensibilidad y especificidad de la saliva fueron del 60% y 97%, respectivamente, mientras que los valores predictivos positivo y negativo fueron del 68% y 96%, respectivamente. La precisión fue del 93,0% y el coeficiente Kappa fue de 0,596, lo que indica una concordancia moderada. Aunque el coeficiente Kappa indicó una concordancia moderada en este estudio, las muestras de saliva pura fueron similares a las obtenidas por SNF. La simplicidad de la recolección, la escasez de EPP y la transmisibilidad del virus favorecen la auto-recolección de saliva como pruebas más precisas, lo que lleva a una reducción en el tiempo de espera y a una disponibilidad más rápida de los resultados.

Palabras clave: Excreción salival; Prueba de ácido nucleico para COVID-19; Virus SARS-CoV-2.

1. Introdução

O Vírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave 2 (SARS-CoV-2), agente causador da doença do Coronavírus (Covid-19) – assim chamada porque "co" refere-se a "coroa", "vi" a "vírus", "d" a "doença" e "19" ao ano de seu surgimento – foi identificado pela primeira vez no final de dezembro de 2019, devido a uma série de casos de pneumonia de origem desconhecida em Wuhan, província de Hubei, China, com aspectos clínicos semelhantes ao MERS-CoV (Teles et al., 2020).

O SARS-CoV-2 é um *Betacoronavírus* com um genoma de RNA de fita simples positiva, intimamente relacionado aos coronavírus SARS-CoV encontrados em morcegos-ferradura chineses (*Rhinolophus sp.*). No entanto, as proteínas *Spike* do SARS-CoV-2, bem como as ORF8 e ORF3b, apresentam diferenças significativas em relação a outros coronavírus, o que pode influenciar a transmissibilidade e a patogenicidade do vírus (To et al., 2020; Soto, 2020).

Durante a pandemia, os testes para diagnóstico da Covid-19 foram avaliados usando várias amostras biológicas, como plasma, soro, urina e saliva. O Ministério da Saúde (MS) recomendou o exame de reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa (RT-PCR) utilizando coletas com swab nasofaríngeo (SNF) como o "padrão ouro" para a detecção do SARS-CoV-2. Esse método de coleta, além de ser desconfortável e induzir a tosse, pode diminuir o consentimento e a busca dos pacientes para a realização do exame (Vaz et al., 2020). Por outro lado, estudos indicam que o SARS-CoV-2 pode ser facilmente detectado na saliva, o que pode ser promissor para reduzir o risco de transmissão nosocomial (Teles et al., 2020).

Diante do exposto, o objetivo deste estudo é avaliar a eficácia da saliva como amostra alternativa para a detecção do SARS-CoV-2 em profissionais de saúde e pacientes atendidos em um hospital universitário na cidade de João Pessoa, no estado da Paraíba, comparando os resultados com amostras coletadas por swab nasofaríngeo (SNF).

2. Metodologia

2.1 Tipo de estudo

Trata-se de um estudo clínico-laboratorial, descritivo e quantitativo (Merchán-Hamann & Tauil, 2021).

2.2 Amostras e local do estudo

Foram coletadas células da mucosa nasofaríngea e saliva de pacientes atendidos no Hospital Universitário Lauro Wanderley (HULW) da Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares (EBSERH), bem como de profissionais de saúde que prestavam assistência direta a pacientes com Covid-19. As amostras foram fornecidas após a obtenção do consentimento dos participantes, que assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). O estudo foi aprovado no dia 7 de abril de 2021 pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Centro de Ciências da Saúde (CCS) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB) sob o protocolo n° CAAE 40402820.4.0000.5188.

2.3 Coleta das amostras

As amostras pareadas de SNF e saliva foram obtidas entre 1° de agosto e 9 de novembro de 2021. A coleta de SNF foi realizada por profissionais de enfermagem do HULW, utilizando a técnica padrão conforme o protocolo de triagem da Covid-19. As amostras de saliva foram obtidas pelos próprios participantes, após a coleta de SNF, sem supervisão profissional. Antes da coleta, os participantes foram instruídos a salivar por 30 segundos e, em seguida, cuspir suavemente em um tubo Falcon de 50 mL estéril, até atingir 2 mL de saliva. O recipiente foi então fechado e higienizado externamente com álcool 70%. No total, foram coletadas 365 amostras de SNF e saliva. Após a coleta, ambas as amostras foram armazenadas em uma caixa térmica a 4 °C e encaminhadas para o laboratório.

2.4 Extração das amostras

A extração das amostras de SNF e saliva foi realizada utilizando kits de extração de RNA e DNA viral (MVXA-P016FAST) da Locus™. Em uma placa de 96 poços fundos (*deepwell*), foram adicionados 5 µL de Proteinase K, 10 µL do controle interno (IC) e 100 µL das amostras de SNF em cada poço. As amostras de saliva foram adicionadas em outra placa, seguindo a mesma proporção de amostra, Proteinase K e controle interno. As placas foram então inseridas no extrator e purificador automático de 96 poços por 27 minutos. Todas as etapas de extração foram realizadas conforme as instruções do fabricante, levando aproximadamente uma hora.

2.5 Detecção e quantificação das amostras por RT-qPCR

A detecção do SARS-CoV-2 nas amostras de SNF e saliva foi realizada utilizando a técnica de reação em cadeia da polimerase em tempo real de transcrição reversa (RT-qPCR), com o kit Biomanguinhos™ como marcador do gene E. O valor limiar de ciclo (Ct) foi utilizado como indicador da carga viral do SARS-CoV-2. Um teste com valor de Ct menor ou igual a 37 foi considerado positivo. Testes com valor de Ct acima de 37 foram considerados inconclusivos e repetidos. Se o mesmo resultado fosse observado na repetição do RT-qPCR, o teste seria considerado negativo.

2.6 Análise estatística

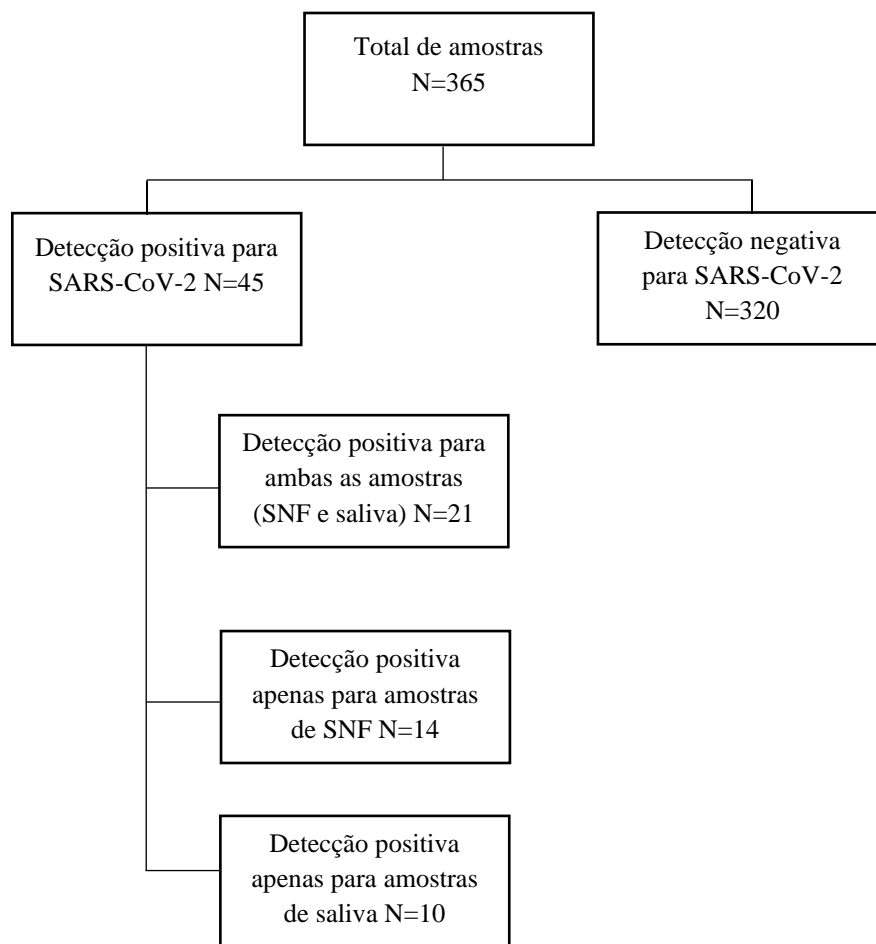
Para todas as análises estatísticas, foi utilizado o software SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*), versão 23. O número de ciclos (*threshold cycle*) do RT-qPCR, de acordo com os métodos de amostragem, foi comparado utilizando o teste t de amostras pareadas. A concordância entre os dois métodos foi avaliada com o teste Kappa, que varia de 0 a 1 (0-0,2 = pobre, 0,21-0,4 = regular, 0,41-0,6 = moderado, 0,61-0,8 = substancial, 0,81-1 = quase perfeito), sendo 1 a concordância perfeita.

3. Resultados

Um total de 365 participantes assintomáticos para Covid-19 forneceu amostras pareadas de SNF e saliva para análise.

A idade média dos participantes foi de 42 anos, e a maioria (71%) era do gênero feminino. As amostras chegaram ao laboratório dentro de uma hora após a coleta, sendo transportadas em caixa isotérmica. A maioria dos participantes produziu 2 mL de saliva. Dos 365 participantes, 45 (12,3%) apresentaram detecção viral para SARS-CoV-2 por RT-qPCR no gene alvo E. Desses, 21 (46,7%) tiveram detecção viral em ambas as amostras de SNF e saliva, 14 (31,1%) apenas em SNF e 10 (22,2%) apenas em saliva, conforme a Figura 1.

Figura 1 - Fluxograma. Etapas para detecção de SARS-CoV-2 em amostras SNF e saliva.



Fonte: Dados da pesquisa (2021).

Utilizando amostras de SNF como padrão-ouro, a sensibilidade e a especificidade da saliva foram de 60% e 97%, respectivamente. O valor preditivo positivo (VPP) foi de 68% e o valor preditivo negativo (VPN) foi de 96%. A acurácia foi de 93%, e o coeficiente Kappa foi de 0,596 (IC 95%: 0,441-0,752), conforme mostrado na Tabela 1.

Tabela 1 - Resultado da análise estatística do método de amostragem de saliva.

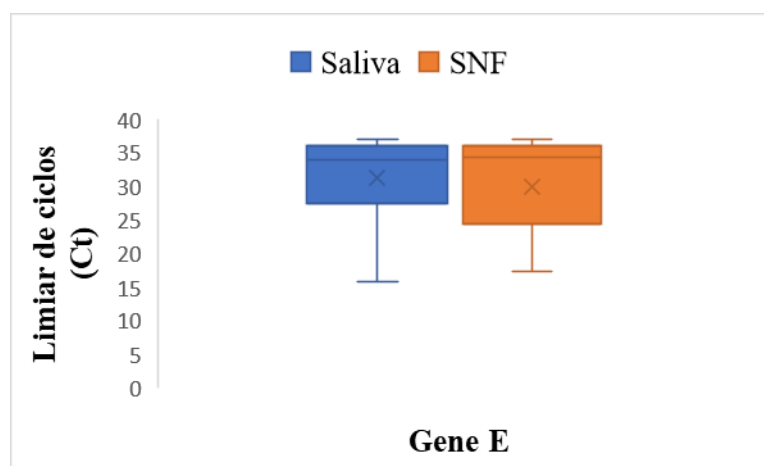
Propriedades	Amostra de saliva (%)
Sensibilidade	60,0
Especificidade	97,0
VPP*	68,0
VPN**	96,0
Acúrcia	93,0

Nota: *Valor Preditivo Positivo ** Valor Preditivo Negativo.

Fonte: Dados da pesquisa (2021).

Entre os 21 participantes com amostras pareadas detectáveis, os valores medianos do Ct para o gene alvo E foram de 29,9 nas amostras de SNF e de 31,2 nas amostras de saliva (Figura 2).

Figura 2 - Valores Ct por RT-qPCR para o gene alvo E em participantes com amostras positivas pareadas.



Fonte: Dados da pesquisa (2021).

4. Discussão

Desde 2003, as amostras de saliva têm demonstrado resultados promissores na detecção e diagnóstico dos Coronavírus (SARS-CoV) (Azzi et al., 2021). Esses resultados são notáveis porque as amostras de saliva são tão sensíveis quanto as amostras de SNF. Estudos realizados por To et al. (2020), Wyllie et al. (2020), Rao et al. (2021) mostraram maior sensibilidade nas amostras de saliva em comparação com as amostras de SNF. Por outro lado, Jamal et al. (2021) relataram uma sensibilidade menor nas amostras de saliva em comparação com as amostras de SNF. Neste estudo, a sensibilidade e a especificidade para a detecção do SARS-CoV-2 na saliva foram de 60% e 97%, respectivamente. Essa discrepância entre os estudos pode ser atribuída às diferentes técnicas de amostragem, aos kits de detecção utilizados e às características da população estudada.

Em relação à concordância das amostras, Senok et al. (2020) e Vaz et al. (2020) em investigações independentes, comprovaram uma alta taxa de concordância para o SARS-CoV-2 em amostras de saliva quando comparadas às de nasofaringe. Corroborando esses estudos, Azzi et al. (2021) e Yoon et al. (2020) também demonstraram uma alta concordância das amostras de saliva em relação às de SNF. Neste estudo, a concordância entre as amostras de SNF e saliva foi avaliada pelo coeficiente Kappa, que foi de 0,596, indicando uma concordância moderada. Embora o valor do Kappa seja inferior ao de outros estudos, o desenho deste estudo foi impactado pelas dificuldades associadas à amostragem e pelos riscos envolvidos, o que pode ter reduzido a taxa de adesão e, conseqüentemente, o valor do Kappa na análise estatística.

Uma das maiores dificuldades na coleta de amostras de SNF é obter o consentimento dos pacientes para a realização do exame, pois eles experimentam um certo desconforto durante o procedimento, tornando-o menos aceitável, especialmente para crianças e idosos (Jamal et al., 2021; Senok et al., 2020). No entanto, a coleta de amostras de saliva é mais bem aceita pelos pacientes, pois não envolve procedimentos invasivos, é de fácil obtenção, pode ser realizada independentemente das manifestações da doença e fora do ambiente hospitalar ou de centros de saúde especializados.

Nossos resultados foram comparáveis aos de estudos semelhantes que utilizaram amostras de saliva pura para a detecção do SARS-CoV-2, obtidas de uma população de participantes acompanhados em um hospital universitário. Em algumas pesquisas, os autores recomendaram que as amostras fossem coletadas imediatamente após os indivíduos acordarem, sem consumo prévio de alimentos ou escovação dos dentes (Azzi et al., 2021; Hanege et al., 2021). Neste estudo, a saliva foi coletada

pelos próprios participantes dentro do ambiente hospitalar, sem nenhuma restrição.

Em estudos anteriores, as amostras de saliva foram coletadas usando dispositivos especiais para melhorar a qualidade e a quantidade da saliva obtida (To et al., 2020; Sahajpa et al., 2021). No entanto, esses dispositivos muitas vezes não estão disponíveis ou são difíceis de obter em centros de assistência médica geral, especialmente em países de baixa renda. No presente estudo, os participantes foram orientados a cuspir repetidamente em um tubo Falcon de 50 mL estéril, sem o uso de qualquer meio de transporte adicional, como é rotineiro no Hospital Universitário. Por não necessitar de dispositivos especiais, a coleta de saliva pode ser incorporada à prática clínica da Covid-19 sem comprometer a qualidade da amostra, conforme relatado em outros estudos.

Embora a coleta de amostras por swab nasofaríngeo (SNF) seja a principal técnica utilizada no Brasil, é importante destacar o custo do material necessário. Por exemplo, Justo et al. (2021) relatam que esse tipo de coleta custa aproximadamente R\$ 2,15, incluindo um swab, um tubo e o meio de transporte viral. Além disso, esse método exige o uso completo de Equipamentos de Proteção Individual (EPI), como touca, respirador N95, protetor facial, avental e luvas para os profissionais que realizam a coleta, o que pode aumentar a pressão sobre os recursos do sistema de saúde (Vaz et al., 2020; Güçlü et al., 2020). A coleta de saliva, por outro lado, não requer swab, meio de transporte viral ou profissionais de saúde especializados, pois é realizada pelo próprio paciente, o que pode reduzir os custos pela metade. Em estudos realizados por Yoon et al. (2020), o tempo e o custo associados à coleta de saliva foram 2,26 vezes menores do que os das amostras de SNF.

5. Conclusão

Nosso estudo demonstrou que a saliva é uma amostra alternativa para a detecção do SARS-CoV-2. Embora os resultados tenham mostrado uma concordância moderada entre as duas amostras, saliva e SNF, as amostras de saliva podem ser utilizadas no diagnóstico da Covid-19, uma vez que o RNA viral é extraído por meio de RT-PCR para a detecção molecular do SARS-CoV-2 em ambientes comunitários, sem a necessidade de métodos invasivos. Isso torna a coleta de saliva mais aceitável para os pacientes, especialmente para crianças e idosos.

A autocoleta de saliva pelos pacientes elimina o tempo de espera, permitindo que os resultados sejam disponibilizados mais rapidamente. Esse fator é especialmente importante em ambientes clínicos movimentados, onde o número de profissionais disponíveis é limitado. Além disso, a coleta de saliva reduz os custos com materiais e diminui a exposição dos profissionais de saúde a indivíduos potencialmente infectados.

Mais pesquisas são necessárias para aprofundar o entendimento das possíveis alterações no proteoma da saliva, o que pode levar à identificação de novos biomarcadores diagnósticos ou ajudar a esclarecer os mecanismos envolvidos na doença. Com o desenvolvimento de métodos adequados de coleta, processamento de amostras e aplicação de ensaios apropriados, a saliva pode oferecer informações clínicas valiosas sobre a doença e, eventualmente, ser incluída nas diretrizes para coleta de amostras, diagnóstico, manejo e controle da Covid-19.

Agradecimentos

Agradecemos à Unidade Profissional e Tecnológica Escola Técnica de Saúde da UFPB pelo fornecimento de insumos e pelo espaço para a realização da pesquisa.

Financiamento

O financiamento da pesquisa foi obtido por meio do edital nº 010/2021 – FAPESQ/PB – MCTIC/CNPq – Programa de Infraestrutura para Jovens Pesquisadores/Programa Primeiros Projetos – PPP, e pela chamada de produtividade UFPB 03/2020

- Programa de Apoio à Pesquisa da UFPB.

Referências

- Azzi, L., Maurino, V., Baj, A., Dani, M., d'Aiuto, A., Fasano, M., Lualdi, M., Sessa, F., & Alberio, T. (2021). Diagnostic Salivary Tests for SARS-CoV-2. *J Dent Res*, 100(2), 115-123.
- Güçlü, E., Koroglu, M., Yürümez, Y., Toptan, H., Kose, E., Güneysu, F., & Karabay, O. (2020). Comparison of saliva and oro-nasopharyngeal swab sample in the molecular diagnosis of COVID-19. *Rev Assoc Med Bras*, 66(8), 1116-1121.
- Hanege, F. M., Kocoglu, E., Kalcioğlu, M. T., Celik, S., Cag, Y., Esen, F., Bayindir, E., Pence, S., Mese, E. A., & Agalar, C. (2021). SARS-CoV-2 Presence in the Saliva, Tears, and Cerumen of COVID-19 Patients. *Laryngoscope*, 131(5), 1677-1682.
- Jamal, A. J., Mozafarhashjin, M., Coomes, E., Powis, J., Li, A. X., Paterson, A., Anceva-Sam, S., Barat, S., Crowl, G., Faheem, A., Farooqi, L., Khan, S., Prost, K., Poutanen, S., Taylor, M., Yip, L., Zhong, X. Z., McGeer, A. J., & Mubareka, S. (2021). Sensitivity of Nasopharyngeal Swabs and Saliva for the Detection of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2. *Clin Infect Dis*, 72(6), 1064-1066.
- Justo, A. F. O., Bueno, M. S., Barbosa, G. R., Perosa, A. H., Carvalho, J. M. A., Bellei, N. (2021). Comparison of viral load between saliva and nasopharyngeal swabs for SARS-CoV2: the role of days of symptoms onset on diagnosis. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 116(e210018), 1-4.
- Merchán-Hamann, E. & Tauil, P. L. (2021). Proposta de classificação dos diferentes tipos de estudos epidemiológicos descritivos. *Epidemiol. Serv. Saude*, 30(1), 1-13.
- Rao, M., Rashid, F. A., Sabri, F. S. A. H., Jamil, N. N., Zain, R., Hashim, R., Amran, F., Kok, H. T., Samad, M. A. A., & Ahmad, N. (2021). Comparing Nasopharyngeal Swab and Early Morning Saliva for the Identification of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Clin Infect Dis*, 72(9), 352-356.
- Sahajpa, N. S., Mondal, A. K., Ananth, S., Njau, A., Ahluwalia, P., Kota, V., Caspary, K., Ross, T. M., Farrell, M., Shannon, M. P., Fulzele, S., Chaubey, A., Hegde, M., Rojiani, A. M., & Kolhe, R. (2021). Clinical Validation of a Sensitive Test for Saliva Collected in Healthcare and Community Settings with Pooling Utility for Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Mass Surveillance. *The Journal of Molecular Diagnostics*, 23(7), 788-795.
- Senok, A., Alsuwaidi, H., Atrah, Y., Ayedi, O. A., Zahid, J. A., Han, A., Marzooqi, A. A., Heialy, S. A., Altrabulsi, B., AbdelWareth, L., Idaghdour, Y., Ali, R., Loney, T., & Alsheikh-Ali, A. (2020). Saliva as an Alternative Specimen for molecular COVID-19 Testing in Community Settings and Population-Based Screening. *Infection and Drug Resistance*, 13(1), 3393-3399.
- Soto, G. P. (2020). Bases Genéticas y Moleculares del COVID-19 (SARS-CoV-2). Mecanismos de Patogénesis y de Respuesta Inmune. *Int. J. Odontostomat*, 14(3), 331-337.
- Teles, S. G. S., Castro, M. C. S. R., Dutra, S. N., & Santos, L. M. S. (2020). A saliva como alternativa para diagnóstico de Covid-19: uma revisão sistemática. *Revista Científica da FMC*, 15(2), 51-55.
- To, K. K. W., Tsang, O. T. Y., Yip, C. C. Y., Chan, K. H., Wu, T. C., Chan, J. M. C., Leung, W. L., Chik, T. S. H., Choi, C. Y. C., Kandamby, D. H., Lung, D. C., Tam, A. R., Poon, R. W. S., Fung, A. Y. F., Hung, I. F. N., Cheng, V. C. C., Chan, J. F. W., & Yuen, K. Y. (2020). Consistent Detection of 2019 Novel Coronavirus in Saliva. *Clin Infect Dis*, 71(15), 841-843.
- Vaz, S. N., Santana, D. S., Netto, E. M., Pedroso, C., Wang, W. K., Santos, F. D. A., & Brites, C. (2020). Saliva is a reliable, non-invasive specimen for SARS-CoV-2 detection. *Braz J Infect Dis*, 24(5), 422-427.
- Wyllie, A. L., Fournier, F., Massana, A. C., Campbell, M., Tokuyama, M., Vijayakumar, P., Warren, J. L., Geng, B., Muenker, C. M., Moore, A. J., Vogels, C. B. F., Petrone, M. E., Ott, I. M., Lu, P., Venkataraman, A., Lu Culligan, A., Klein, J., & Earnest, R. (2020). Saliva or Nasopharyngeal Swab Specimens for Detection of SARS-CoV-2. *N Engl J Med*, 383(13), 1283-1286.
- Yoon, J. G., Yoon, J., Song, J. Y., Yoon, S. Y., Lim, C. S., Seong, H., Noh, J. Y., Cheong, H. J., & Kim, W. J. (2020). Clinical Significance of a High SARS-CoV-2 Viral Load in the Saliva. *J Korean Med Sci*, 35(20), 1-6.