



CATÓLICA  
FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA

---

UISEU

# TESTES DE DIAGNÓSTICO EM SALIVA PARA APOIO À MEDICINA DENTÁRIA DE PRECISÃO – SCOPING REVIEW

Dissertação apresentada à Universidade Católica Portuguesa  
para obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Por:  
Fátima Aparecida Rocha Resende Hartenbach

Viseu, 2024





CATÓLICA  
FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA

---

VISEU

## TESTES DE DIAGNÓSTICO EM SALIVA PARA APOIO À MEDICINA DENTÁRIA DE PRECISÃO – SCOPING REVIEW

Dissertação apresentada à Universidade Católica Portuguesa  
para obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Por:

Fátima Aparecida Rocha Resende Hartenbach

Orientador: Prof. Dr. Nuno Rosa  
Coorientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Rita Bornes

Viseu, 2024

Dedico esse trabalho primeiramente a Deus, por ter me dado o dom da vida e por estar guiando os meus passos. A meus pais que sempre me apoiaram em todas as decisões de minha vida, me ensinando e educando de maneira digna e correta. Aos meus avôs que foram grandes inspirações e motivo de muito orgulho para mim. Ao meu marido por todo o apoio, principalmente nas horas mais difíceis, por toda a paciência e compreensão. Ao meu filho que apesar de todas as dificuldades foi motivo de grande inspiração. Aos meus orientadores e a professora Anna Carolina Moura que me incentivaram e por todo o apoio dado em cada minuto de tensão e desespero. Aos meus amigos brasileiros e colegas da faculdade que me ajudaram com esse trabalho a concretizar um grande sonho.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof. Nuno Rosa e a Prof.<sup>a</sup> Rita Bornes agradeço a oportunidade e a confiança depositada em mim. Agradeço todo o apoio, dicas e ensinamentos transmitidos ao longo do curso. Sempre muito atenciosos e dispostos a ajudar.

À Prof.<sup>a</sup> Anna Carolina Moura por todo apoio, incentivo e por ter me dado forças para não desistir. Sempre muito atenciosa e disposta a ajudar.

À minha família por todo apoio e compreensão durante minha ausência e todo o incentivo para que eu não desistisse.

Aos meus amigos brasileiros e argentino que foram minha rede de apoio e me incentivaram em cada momento de dificuldade.

A minha prima Maria Fernanda Granja Goncalves Pinheiro e minha tia-avó Adelaide Granja Goncalves Pinheiro por todo incentivo e apoio para a realização desse sonho.

Aos funcionários e professores da Clínica Integrada, agradeço por toda a ajuda. Sempre solícitos e dispostos a ajudar em qualquer momento. Obrigada pela ajuda durante o atendimento aos pacientes.

Aos pacientes, agradeço pela dedicação, confiança e respeito pelo trabalho.

A Faculdade de Medicina Dentária da Universidade Católica Portuguesa por todo o apoio e compreensão.

Agradeço a todos que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização desse trabalho e concretização desse sonho.

## **RESUMO**

### **Introdução:**

Ao longo dos anos, a saliva ganhou grande importância com a finalidade de diagnóstico para doenças orais e sistêmicas. Com isso, foram desenvolvidos diversos testes de diagnóstico com o objetivo de ter uma aplicação clínica, nomeadamente testes “chair-side” e “point of care”. Esses resultados permitem que o paciente tenha um tratamento personalizado para a sua condição com a melhor abordagem clínica e o mínimo de efeitos indesejáveis. No entanto, poucos têm tido aplicação em contexto clínico devido a inúmeros fatores o que impossibilita o uso para apoio à decisão clínica e tratamento.

### **Objetivo:**

Identificar os testes de diagnóstico em saliva desenvolvidos até ao momento que estão validados e/ou comercializados e verificar os que têm maior potencial de aplicação em contexto clínico na Medicina Dentária. Devido a esses resultados, propor novos testes para o exercício da Medicina Dentária de Precisão.

### **Materiais e métodos:**

Uma estratégia de pesquisa foi realizada no PubMed, Scopus e Web of Science para avaliar a aplicabilidade dos testes de diagnóstico em saliva na medicina dentária através de uma Scoping Review. Foram seguidas a estratégia “PRISMA Extension for Scoping Reviews (PRISMA-ScR)” para seleção e análise dos artigos a considerar nessa ScR.

### **Resultados:**

Foram encontrados 12 testes de diagnóstico em saliva validados e/ou comercializados para periodontites, peri implantites, cáries, SIDA, HPV, stress, cancro oral e halitose. Esses testes permitem monitorizar e diagnosticar precocemente essas doenças.

### **Conclusão:**

Apesar de existir uma grande variabilidade de testes de diagnóstico em saliva, poucos são os validados e comercializados. Uma das principais fragilidades da maioria dos testes é avaliarem apenas um biomarcador, comprometendo a especificidade e eficácia para diagnóstico de determinadas doenças. Mais estudos com múltiplos biomarcadores devem ser realizados a fim de um diagnóstico mais preciso e eficaz.

**Palavras chaves:** Saliva, Medicina dentária, Doenças orais, Chip, Técnicas de biossensor.

## **ABSTRACT**

### **Introduction:**

Over the years, saliva has gained great importance for diagnostic purposes for oral and systematic diseases. As a result, several diagnostics tests were developed with the aim of having a clinical application, such as “chair side” and “point of care”. These results allow the patient to have a personalized treatment for their condition with the next clinical approach and minimal undesirable effects. However, few have been applied in a clinical context due to numerous facts, which makes it impossible to use it to support clinical decision and treatment.

### **Objectives:**

Identify the saliva diagnostic tests developed until now that are validated and/or commercialized and verify those that have the biggest potencial for application in the context of dentistry. Due to these results, we propose new tests for the practice of Precision Dentistry

### **Materials and Methods:**

A search strategy was done in Pubmed, Scopus and Web of Science to evaluate the applicability of saliva diagnostic tests in dentistry through a Scoping Review. The “PRISMA Extension for Scoping Reviews (PRISMA-ScR)” strategy was followed to select and analyze the articles to be considered in this ScR.

### **Results:**

Twelve validated and/or commercialized saliva diagnostic tests were found for periodontitis, decays, AIDS, HPV, stress, oral cancer and halitosis. These tests allow monitoring and early diagnosis of these diseases.

### **Conclusion:**

Despite there being a great variability of saliva diagnostic tests, few were validated and commercialized. One of the main weaknesses of most of the identified tests is that they

evaluate only one biomarker, compromising the specificity and efficacy for diagnosing certain diseases. Further studies with multiple biomarkers should be performed in order to make a more accurate and effective diagnosis.

**Keywords:** Saliva, Dentistry, Mouth diseases, Chip, Biosensing techniques,

## ÍNDICE

<b>1- INTRODUÇÃO.....</b>	<b>01</b>
<b>1.1 Saliva como fluido de diagnóstico.....</b>	<b>01</b>
<b>1.2 Tecnologias “ómicas” .....</b>	<b>02</b>
<b>1.3 Medicina de precisão .....</b>	<b>03</b>
<b>2- OBJETIVOS .....</b>	<b>05</b>
<b>3- MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>06</b>
<b>4- RESULTADOS .....</b>	<b>08</b>
<b>5- DISCUSSÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>6- CONCLUSÃO .....</b>	<b>22</b>
<b>7 -BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>23</b>

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Pesquisa metodológica no PubMed (MeSH) .....	07
Tabela 2. Pesquisa metodológica no Scopus .....	07
Tabela 3. Pesquisa metodológica no Web of Science .....	07
Tabela 4. Artigos e testes selecionados .....	10
Tabela 5. Caracterização dos testes de diagnóstico.....	11

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Processo de seleção e inclusão para a Scoping Review .....	08
Figura 2. Testes desenvolvidos por localização .....	09
Figura 3. Testes desenvolvidos por doenças .....	09
Figura 4. Testes comercializados pelo laboratório OralDNA® Labs (OraRisk® HPV test, MyPerioPath® e OraRisk® Caries) e Dentocult® .....	15
Figura 5. Composição do OralDisk .....	15
Figura 6. Testes para diagnóstico de halitose .....	16
Figura 7. Testes rápidos comercializados pela indústria farmacêutica .....	17
Figura 8. Representação esquemática da constituição do eletronic tongue .....	18
Figura 9. Esquema e Biossensor para deteção de alfa-amilase .....	19
Figura 10. Plataforma do IMPOD para análise de biomarcadores .....	20
Figura 11. Sistema eletromecânico integrado OFNASET .....	20

## ÍNDICE DE SIGLAS, ACRÓNIMOS E ABREVIATURAS

bio- - biological

BioMEMS - microeletromecânicos

chem- - chemical

e-tongue - eletronic tongue

EFIRM - liberação e medição induzida por um campo elétrico

FDA - Food and Drug Administration

IA - Inteligência artificial

IL-6 – interleucinas

LB - *Lactobacillus*

LOC - lab-on-chip

MEMS - micro-electro-mechanical systems

MMP - metaloproteinases

mRNA - RNA mensageiro

OFNASET - Oral fluid nanosensor test

OSF - Open Science Framework

p-BNC - programmable Bio-Nano-Chip

PCR - Polymerase chain reaction

PCR – RT - polymerase chain reaction – real time

PoC - point-of-care

PRISMA – Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-

AnalysisPROSPERO – International Prospective Register os Systematic Reviews

*ScR - Scoping Review*

SIDA - Síndrome da imunodeficiência adquirida

SM - *Streptococci Mutans*

## 1. INTRODUÇÃO

O uso da saliva para testes de diagnóstico na área da medicina dentária tem ganho cada vez mais importância na área científica. Isso é devido ao desenvolvimento e aperfeiçoamento de técnicas de espectrometria de massa e avanço das tecnologias como por exemplo os biossensores. A combinação entre a tecnologia e o conhecimento do mecanismo das doenças permitiram o desenvolvimento e criação de testes para apoio a medicina dentária de precisão.

### 1.1 Saliva como fluido de diagnóstico

A saliva tem sido usada em diversos estudos por ser considerada um dos fluidos mais importantes do organismo humano, principalmente relacionado a homeostase oral (1). A composição da saliva apresenta diversas enzimas do hospedeiro e microbianas, glicoproteínas, água, aminoácidos, substâncias orgânicas (proteínas com diferentes funções como por exemplo: mucinas, amilases, lisozimas, ptialinas, imunoglobulinas, lactoferrinas, entre outras) e inorgânicas (íons como cálcio, sódio, potássio, bicarbonato, cloro, flúor, ferro, entre outros). A saliva é produzida em maior quantidade pelas glândulas salivares maiores (parótida, submandibular e sublingual) e em menor quantidade pelas glândulas salivares menores (linguais, palatinas e bucais). A saliva é um fluido muito rico em informação e pelas diversas vantagens, é cada vez mais utilizado pelos investigadores, principalmente na área da medicina de precisão (1,2). De entre as vantagens apresentadas pelo uso da saliva, destacam-se o facto de ser uma técnica não invasiva, o que facilita a adesão dos pacientes, fácil e rápida recolha, um método seguro, indolor e uma técnica de baixo custo (2–6). Apesar destas vantagens, a saliva apresenta algumas características que influenciam a sua composição e que devem ser tidas em conta aquando do desenvolvimento de testes ou aquando da interpretação dos seus resultados, como por exemplo a sua variação circadiana, tanto em termos de fluxo como em termos de composição (7-9). A saliva tem sido frequentemente utilizada na triagem de diversas doenças orais e sistémicas e verifica-se que as alterações na composição e função podem refletir o estado da cavidade oral mas também o estado sistémico do indivíduo (2–4,7–10).

## 1.2 Tecnologias “ômicas”

Apesar da enorme riqueza em termos de informação molecular e microbiológica presente na saliva, a obtenção dessa informação para ser utilizada em diagnóstico é um desafio atual. O avanço das tecnologias permitiu o desenvolvimento de técnicas “ômicas” modernas que possibilitou a identificação de moléculas cada vez menores, a nível de concentrações molares infinitamente pequenas. Logo, os analitos presentes em saliva que não eram detetáveis, passaram a ser e fornecer novas informações. Isso permitiu cada vez mais a utilização da saliva, tornando-a tão importante como o sangue para algumas doenças. Outra grande vantagem em relação ao uso de sangue é a recolha, uma vez que muitos pacientes sentem medo e dor ao fazê-la e esse stress pode levar a alterações de resultados (11). Devido a isso, muitos estudos utilizando novas técnicas de espectrometria de massa identificaram diversos biomarcadores e marcadores específicos baseado na condição periodontal e oral (6,7,10,12–15). Grandes esforços têm sido feitos na pesquisa de marcadores biológicos que possam ser utilizados para prever e, portanto, prevenir e diagnosticar doenças nos seus estágios iniciais. A análise proteômica da saliva humana, em particular, resultou na identificação de múltiplos biomarcadores e assinaturas específicas associadas a formas distintas de doenças periodontais (6,7,12). No entanto, a natureza multifatorial dessas doenças limita o valor preditivo de biomarcadores únicos como fatores de risco. Na periodontite, a diversidade do microbioma oral parece aumentar ainda mais e proporcionam redundância funcional e resiliência ao microbioma humano, podendo ser determinadas por fatores genéticos, epigenéticos e ambientais (16,17). Através do desenvolvimento e aperfeiçoamento das tecnologias “ômicas” foi possível desenvolver a medicina de precisão pois verificaram que terapias estabelecidas para determinado tratamento não tinham um mesmo resultado quando aplicados a um grupo de pacientes aparentemente homogêneo, inclusive muitos não respondiam de maneira adequada (com diversos efeitos colaterais) e noutros o tratamento não fazia efeito. Com isso a busca por testes de diagnósticos tem por objetivo um diagnóstico preciso e rápido quando comparado a testes laboratoriais, ao facilitar ao Médico Dentista a realização desses testes no consultório dentário. Uma das desvantagens é que muitas vezes não são sítios específicos por dente, o que pode comprometer um diagnóstico. Caso um médico-dentista generalista realize um teste e o resultado seja positivo, ele pode alterar ou

personalizar o tratamento e/ou encaminhar para um especialista a fim de obter um tratamento eficaz e individualizado (18,19).

### **1.3 Medicina de precisão**

A medicina de precisão baseia-se na personalização de tratamentos e condutas a fim de beneficiar um grupo de pacientes que partilham uma determinada características clínica e/ou molecular. São identificados os indivíduos mais vulneráveis que não responderam a um determinado tratamento ou intervenção por alguma questão genética, metabólica, imunológica ou epigenética. É realizada uma análise e uma anamnese direcionada a aquele paciente, permitindo identificar perfis moleculares, sanguíneos, dados de estilo de vida e hábitos, exames físicos, médicos, dentário e histórico familiar. A medicina de precisão tem-se tornando cada vez mais importante para dar respostas a questões ainda desconhecidas, pois todos os pacientes podem beneficiar de um tratamento personalizado e mais eficaz (18,19), procurando desenvolver diagnósticos precisos e terapias específicas associadas às necessidades do paciente (18). Importa referir que a medicina de precisão baseia-se em 6 pilares: criação de uma nova taxonomia, descoberta e validação dos biomarcadores, criação de um banco de dados com o auxílio da bioinformática, aplicação na saúde pública, investimentos financeiros com pessoas qualificadas e também políticas de conscientização voltada a medicina de precisão (com o apoio do governo, empresários, laboratórios, investigadores, médicos e médicos-dentistas) (18). Um dos objetivos é permitir um rastreio de doenças através do uso de biossensores de forma não invasiva e indolor. Isso irá facilitar a monitorização e controlo de diversas doenças através da criação de bancos de dados por pessoas qualificadas e treinadas para interpretar esses dados bioinformáticos. Através do uso da inteligência artificial (IA) esses dados permitem um alto grau de eficácia para finalidade de diagnósticos adequados e causa impacto diretamente no tipo e na qualidade do tratamento proposto (18).

Com o avanço da medicina de precisão, os testes e biossensores são desenvolvidos dando informações sobre fisiologia e biomarcadores que indica qualquer mudança em tempo real (20). Com o desenvolvimento da medicina de precisão, a tendência é diminuir as despesas com o tratamento, visto que muitas vezes o paciente é submetido a terapias que não respondem a sua fisiologia, o que impossibilita sua melhora e ao mesmo tempo gera mais ansiedade visto que o

tratamento não está sendo eficaz. Esse stress leva a um aumento de mediadores inflamatórios que altera o metabolismo e pode agravar a doença. Além disso, diminui processo de ajustes de doses, trocas de medicamentos e agravamento de doenças (21,22).

Apesar de todas as vantagens da Medicina Dentária de Precisão referidas acima, ela só será uma realidade se o Médico Dentista tiver à sua disposição tecnologias que lhe permitem avaliar rapidamente aspetos característicos dos seus pacientes que sejam úteis para diagnóstico. Nesse sentido, têm sido desenvolvidos testes point-of-care (PoC), na qual destacam-se biossensores que funcionam com um sítio de reconhecimento biológico que permite que moléculas interajam com o analito escolhido. Quando ocorre essa interação um sinal é emitido avaliando a quantidade do analito escolhido naquela amostra. Em seguida, esse sinal é processado a gerar os resultados obtidos (20). As tecnologias utilizadas pelos biossensores baseiam-se em sistemas biológicos microeletromecânicos (BioMEMS), microfluído, libertação e medição induzida por um campo elétrico (EFIRM) e baseados em smartphones (23). Os biossensores estão a ser utilizados em diversas doenças relacionadas à medicina dentária. Por exemplo o biomarcador MMP-8 é medido pelos biossensores em doenças de cancro oral (carcinoma de células escamosas), periodontites e peri-implantites. Há vários testes disponíveis, para a deteção de cancro oral, utilizando o teste nanosensor para fluído oral (OFNASET), para doenças periodontais são utilizados o PerioPath e o PerioSafe e para peri-implantites é utilizado o ImplantSafe/ORALyser.

Nesta Scoping Review, será realizado um levantamento dos testes de diagnóstico em saliva desenvolvidos até ao momento e identificação dos que têm maior potencial de aplicação em contexto clínico na Medicina Dentária para o auxílio da medicina dentária de precisão.

## **2. OBJETIVOS**

Realizar um levantamento dos testes de diagnóstico em saliva (validados e/ou comercializados) desenvolvidos até ao momento e identificação dos que têm maior potencial de aplicação em contexto clínico na Medicina Dentária.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho consiste numa *Scoping Review (ScR)* para identificar os tipos de testes de diagnóstico de salivas que estão disponíveis comercialmente ou validados e avaliá-los quanto à sua eficácia, precisão e sensibilidade para um melhor conhecimento dessa área. A *ScR* consiste num resumo de evidências que sistematicamente identifica e reúne conceitos, questões e tópicos de determinado assunto. A partir dela, pode ser possível o desenvolvimento de uma revisão sistemática.

Para a identificação dos testes de diagnóstico em saliva desenvolvidos até ao momento foi feita uma pesquisa na PUBMED, Web of Science e Scopus até janeiro de 2024. As chaves de pesquisa para as pesquisas realizadas estão nas tabelas 1, 2 e 3. Foram utilizados operadores booleanos “OR” e “AND” com a intenção de combinar os termos de pesquisa. A estratégia de pesquisa escolhida foi Saliva AND (dentistry OR mouth diseases) AND (diagnosis OR Biomarkers) AND (point-of-care testing OR biosensing techniques OR Chair-side OR chip OR sensor). Para seleção e análise dos artigos a considerar na revisão foi seguida a estratégia “PRISMA Extension for Scoping Reviews (PRISMA-ScR)” (24), a fim de respeitar as guidelines, checklists e diretrizes. Foi realizada uma análise crítica dos trabalhos selecionados de modo a identificar quais os testes de diagnóstico em saliva validados e comercializados com maior potencial de aplicação clínica na medicina dentária. No entanto, foi utilizado a literatura cinzenta a fim de identificar os testes comercializados que não são patenteados e não tem artigo publicado. Tendo em conta as necessidades emergentes e o espectro de testes identificados neste trabalho serão ainda propostos novos testes de diagnóstico para dar suporte ao exercício de uma Medicina Dentária de Precisão. Na metodologia foram incluídos artigos em inglês, critérios de busca, critérios de inclusão e exclusão. Os critérios de inclusão foram artigos em inglês na qual abordassem testes de diagnósticos de saliva em medicina dentária.

Foi utilizado a ferramenta Rayyan`s Intelligent Systematic Review Platform (25) que auxilia na decisão para a escolha dos artigos em relação aos critérios de inclusão e exclusão. O projeto de pesquisa foi registrado no Open Science Framework (OSF) com o doi <https://doi.org/10.17605/OSF.IO/XJZU6>

**Tabela 1. Busca metodológica no PubMed (MeSH)**

#1	"Saliva"[MeSH Terms]
#2	"Dentistry"[MeSH Terms]
#3	"Mouth Diseases "[MeSH Terms]
#4	"Diagnosis"[MeSH Terms]
#5	"Biomarkers"[MeSH Terms]
#6	Point-of-Care Testing"[MeSH Terms]
#7	"Biosensing Techniques"[MeSH Terms]
#8	"Chair-side" [MeSH Terms]
#9	"Chip" [MeSH Terms]
#10	"Sensor"[MeSH Terms]
<b>Research combination</b>	<b>#1 AND (#2 OR #3) AND (#4 OR #5) AND (#6 OR #7 OR #8 OR #9 OR #10)</b>
<b>Total number of articles</b>	<b>214 articles</b>

**Tabela 2. Busca metodológica no Scopus**

<b>Saliva AND (dentistry OR mouth diseases) AND (diagnosis OR Biomarkers) AND (point-of-care testing OR biosensing techniques OR Chair-side OR chip OR sensor)</b>	
<b>Total number of articles</b>	<b>25 articles</b>

**Tabela 3. Busca metodológica no Web of Science**

<b>Saliva AND (dentistry OR mouth diseases) AND (diagnosis OR Biomarkers) AND (point-of-care testing OR biosensing techniques OR Chair-side OR chip OR sensor)</b>	
<b>Total number of articles</b>	<b>122</b>

## 4. RESULTADOS

De acordo com a chave de pesquisa, foram encontrados um total de 364 artigos, porém 77 foram eliminados por serem duplicados. No entanto, permaneceram 287 artigos para serem avaliados por título e resumo. Os artigos a serem considerados foram revistos por 2 revisores diferentes (F.H. e R.B.), que individualmente verificaram os artigos de acordo com os critérios de inclusão e exclusão. Qualquer divergência entre os artigos, um terceiro revisor (N.R) determinava a decisão final. Os dois revisores desenvolveram uma metodologia a ser utilizada por ambos a fim de reunir dados específicos no que diz respeito a importância clínica e utilização desse modelo. Os motivos para eliminação de artigos tendo em conta os critérios de exclusão foram: revisões sistemáticas (15), estudos em animais (2), estudos in vitro (4), estudos randomizados (5), estudo cross-sectional (35), estudos caso-controlo (33), estudos microbiológicos (23), estudo de biomarcadores sem finalidade de teste diagnóstico (36), estudos de COVID (14) e estudos não relacionados ao tema (100), nesse contexto foram eliminados 267. Permaneceram eleitos 20 para terminar a elegibilidade e permitir a inclusão de 12 de artigos a incluir na ScR, 8 testes foram excluídos por não apresentarem testes validados e/ou comercializados.

Os resultados respeitantes à seleção dos artigos a integrar no estudo encontram-se resumidos na figura 1.

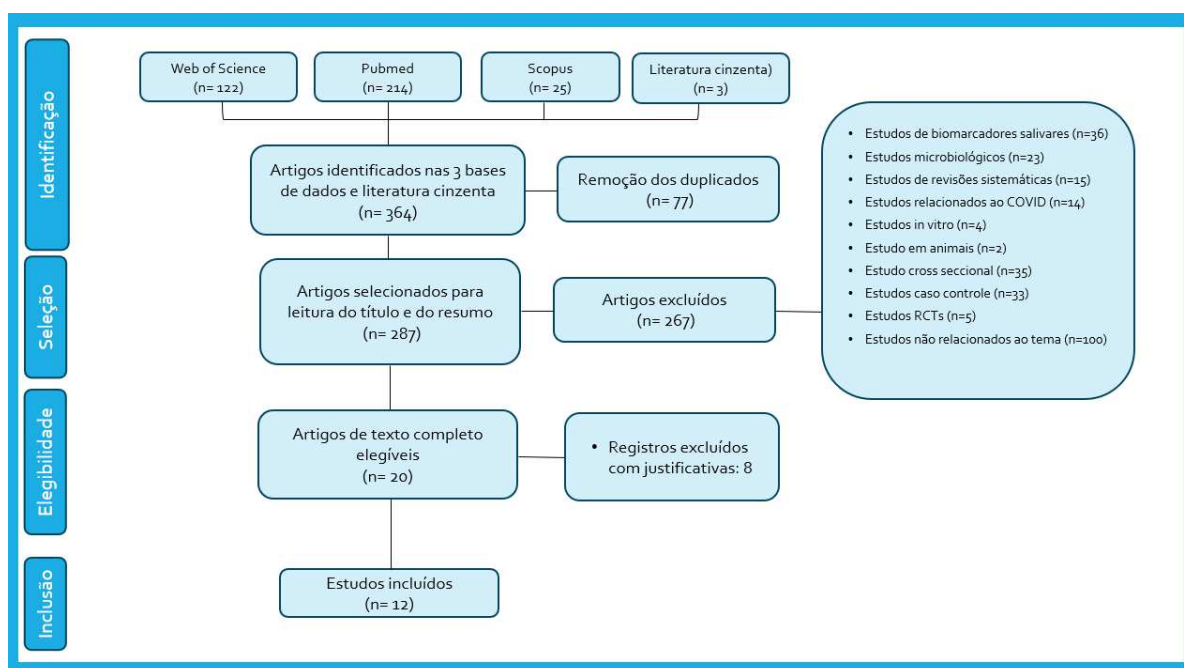


Figura 1. Processo de seleção e inclusão para a Scoping Review.

A maioria dos testes foram desenvolvidos na América do Norte (EUA), sendo que um deles foi realizado em colaboração com o Japão. No Brasil foi desenvolvido o teste da língua eletrónica e 4 testes foram desenvolvidos na Europa (Finlândia, Bélgica e Alemanha) (Figura 2). Há muitos testes a serem desenvolvidos, porém a maioria ainda se encontra sem validação e/ou comercialização. Os países que mais investem nesses estudos são os EUA e a China. A maioria dos testes são para diagnóstico de doenças periodontais, cancro oral e cáries (Figura 3).

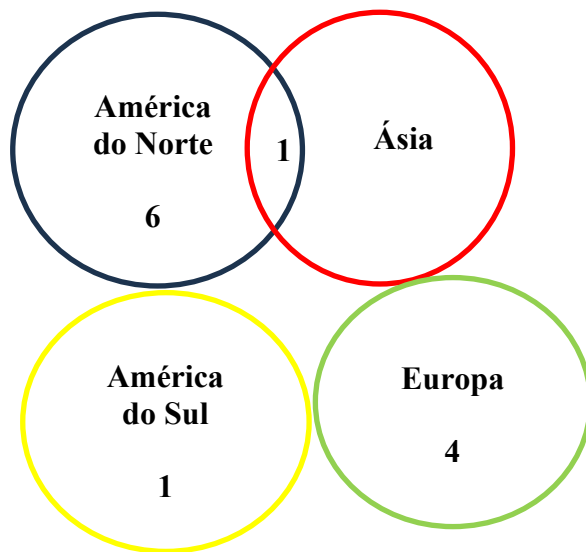


Figura 2. Testes desenvolvidos pelo mundo.

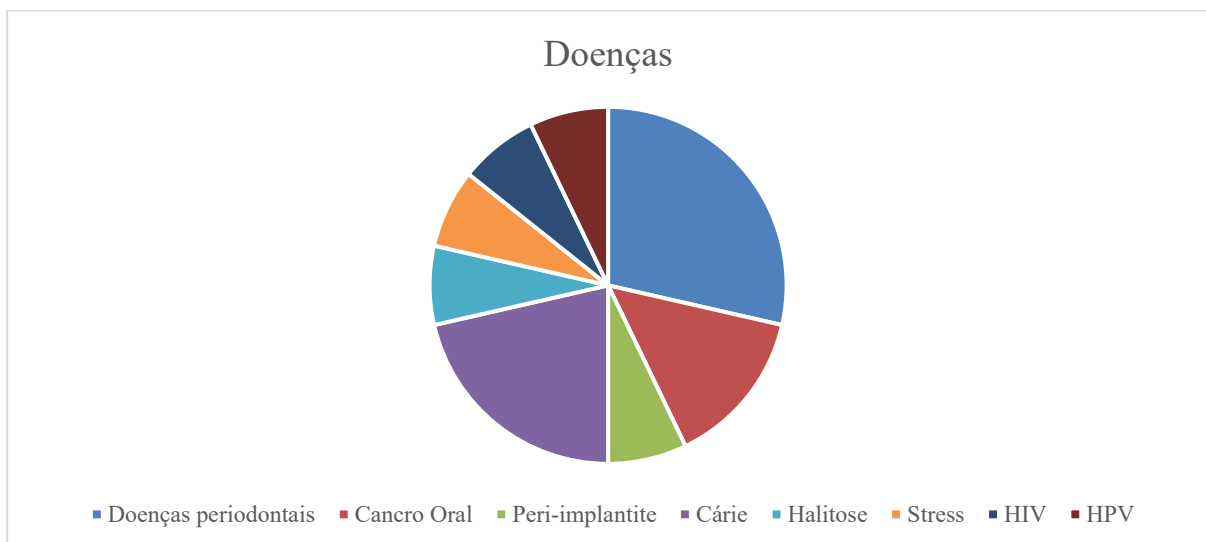


Figura 3. Testes desenvolvidos por doenças.

Dos artigos selecionados será recolhida informação que permita avaliar quais os testes validados e comercializados que têm maior potencial de aplicação em contexto clínico na Medicina Dentária e para fazer a proposta de novos testes para o exercício da Medicina Dentária de Precisão. Apresentam-se na tabela 4, a descrição dos artigos selecionados.

**Tabela 4. Artigos e testes selecionados**

<b>ARTIGO E TESTES</b>	<b>AUTOR</b>	<b>ANO</b>	<b>PAÍS</b>
OraQuick® ADVANCE Rapid HIV-1/2 antibody test	Reynolds, S. J., & Muwonga (32)	2004	EUA
Validation and inter-examiner agreement of mutans streptococci levels in plaque and saliva of 10-year-old children using simple chair-side tests	Karjalainen et. al. (33)	2004	Finlândia
Integrated Microfluidic Platform for Oral Diagnostics	Herr et. al. (40)	2007	EUA
Oral fluid nanosensor test (OFNASET) with advanced electrochemical-based molecular analysis platform	Gau & Wong (43)	2007	EUA
Developmental validation of a point-of-care, salivary a-amylase biosensor	Shetty et. al. (42)	2011	EUA e Japão
Clinical utility of a novel colorimetric chair side test for oral malodour	Dadamio et. al. (37)	2012	Bélgica
Clinical correlates of a lateral-flow immunoassay oral risk indicator	Nwhator et. al. (38)	2014	Alemanha
OralDisk: A Chair-Side Compatible Molecular Platform Using Whole Saliva for Monitoring Oral Health at the Dental Practice	Baumgartner et. al. (36)	2001	Alemanha
Using machine learning and an electronic tongue for discriminating saliva samples from oral cavity cancer patients and healthy individuals	Braz et. al. (41)	2022	Brasil
OraRisk® Caries, Oral DNA® Labs, Eden Prairie, U.S.A.	Mcglennen (34)	2008	EUA
MyPerioPath®, Oral DNA® Labs, Eden Prairie, U.S.A.	Mcglennen (34)	2008	EUA
OraRisk® HPV test, Oral DNA® Labs, Eden Prairie, U.S.A.	Mcglennen (34)	2008	EUA

**Tabela 5. Caracterização dos testes de diagnóstico**

<b>TESTE DE DIAGNÓSTICO</b>	<b>TIPO</b>	<b>DOENÇA</b>	<b>BIOMARCADOR</b>
OraQuick® (32)	imunoensaio com fluxo lateral	SIDA	anticorpos anti-VIH
Dentocult® (33)	Cultura seletiva	Cárie	<i>Streptococci Mutans (SM)</i> e <i>Lactobacillus (LB)</i>
IMPOD (40)	Imunoensaios baseados em chip microfluidicos	Periodontite	MMP-8, IL-1 $\beta$ , e IL-6
OFNASET (43)	Chip com sensor eletroquímico	Cancro oral	Thioredoxina, IL-8 e SAT, ODZ, IL-8, e IL-1
Biosensor de $\alpha$ -amilase salivar portátil (42)	Tira de teste colorimétrica	Stress	$\alpha$ -amilase salivar
Teste para saliva (aminas) OralChroma™ (37)	Teste enzimático colorimétrico para aminas Teste de gases derivados de enxofre	Halitose	Aminas Sulfeto de hidrogênio, metil mercaptano e dimetil sulfeto
PerioSafe® e ImplantSafe® Kit (38)	ensaios imunocromatográficos de fluxo lateral	Periodontite e Peri implantite	MMP-8
OralDisk (36)	Plataforma microfluidica em forma de disco	Cárie e Periodontite	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> , <i>Campylobacter rectus</i> , <i>Fusobacterium nucleatum</i> , <i>Prevotella intermedia</i> , <i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Tannerella forsythia</i> , <i>Treponema denticola</i> , <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Streptococcus sobrinus</i> e <i>Lactobacilli</i>
e-tongue (41)	Biosensor	Cancro oral	Biomarcadores para cancro oral
OraRisk® Caries (34)	Análise de ADN, PCR	Cárie	<i>Streptococcus mutans</i> , <i>Streptococcus sobrinus</i> & <i>Lactobacillus casei</i>

MyPerioPath® (34)	Análise de ADN, PCR	Doença periodontal	<p><i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>  <i>Porphyromonas gingivalis</i>  <i>Tannerella forsythia</i>, <i>Treponema denticola</i>, <i>Eubacterium nodatum</i>  <i>Fusobacterium nucleatum/periodonticum</i>  <i>Prevotella intermedia</i>, <i>Campylobacter rectus</i>, <i>Peptostreptococcus (Micromonas) micros</i>, <i>Eikenella corrodens</i>, <i>Capnocytophaga species (gingivalis, ochracea, sputigena)</i></p>
OraRisk® HPV (34)	Análise de ADN, PCR	HPV	<p>High Risk Genotypes: 16, 18, 26, 30, 31, 33, 34, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 64, 66, 67, 68, 69, 70, 73, 82  Low Risk Genotypes: 2a, 6, 11, 32, 40, 42, 43, 44, 54, 55, 57, 61, 62, 71, 72, 74, 77, 81, 83, 84, 89  Unknown Risk Genotypes: 41, 49, 60, 75, 76, 80, 85</p>

## 5. DISCUSSÃO

O avanço das tecnologias devido às ciências “ômicas” e o aperfeiçoamento de técnicas e dispositivos veio permitir o desenvolvimento de técnicas cada vez mais precisas, eficazes e inovadoras (7,14,20,26). Anos atrás não se podia imaginar que através de uma pequena quantidade de saliva seria possível realizar diagnósticos precisos de doenças, inclusive antes da manifestação clínica de sinais e sintomas (26). A maior parte dos estudos estão na área de periodontite, peri-implantite e cancro oral, porém poucos foram validados e comercializados até o momento (27–31). De acordo com o presente trabalho, os testes que foram validados e comercializados são para doenças como cárie, periodontite, peri-implantite, halitose, cancro oral, stress, HPV e SIDA (Síndrome da imunodeficiência adquirida).

Os primeiros testes comercializados surgiram a partir dos anos 2000, ou seja, são recentes e apresentam várias lacunas. Os primeiros testes baseiam-se em técnicas de detecção de anticorpos e cultura seletiva para determinadas bactérias (32, 33). O teste Dentocult® realiza a cultura seletiva e promove o crescimento e adesão de *S. mutans* nas tiras dos testes. Também foram desenvolvidos os testes OraRisk® HPV test, MyPerioPath® e OraRisk® Caries (Oral DNA® Labs, Eden Prairie, U.S.A.), através da técnica de biologia molecular de PCR (do inglês polymerase chain reaction) que consiste na amplificação do ADN (ácido desoxirribonucleico) e posteriormente replicação para a detecção das moléculas a serem analisadas, sendo um teste bastante sensível e específico (Figura 4) (34). O teste MyPerioPath® embora comercializado, não está aprovado pela FDA. Esses testes são reconhecidos como chair-side apenas nos EUA e Canadá (35). Esses primeiros testes são os mais consolidados, uma vez que foram os pioneiros. Com isso são utilizados em larga escala e podem ser utilizados por qualquer pessoa. Entre os testes produzidos pelo laboratório Oral DNA® Labs, MyPerioPath® e o OraRisk® HPV test são os mais precisos no diagnóstico, uma vez que são identificadas no teste várias espécies de bactérias e diferentes tipos de vírus HPV como biomarcadores para doença periodontal e HPV. Isso torna o teste mais confiável e com o diagnóstico mais preciso. A maioria dos testes possuem apenas um biomarcador, no entanto a maioria dos biomarcadores como metaloproteinases (MMP) e interleucinas estão relacionados a

inflamação, logo qualquer paciente que está ou apresenta uma doença inflamatória poderá ter esses biomarcadores elevados, como por exemplo MMP-8 e IL-6 que são utilizados como marcadores para a periodontite uma vez que atuam na remodelação óssea. O ideal seriam desenvolver testes com mais marcadores presentes para determinada condição e utilizar cada vez mais a seletividade global, com uma seletividade aperfeiçoada a fim de determinar uma “impressão digital” com detalhes específicos das amostras analisadas. Isso vem a ser desenvolvido aos poucos. O Oraldisk também é uma técnica de biologia molecular de PCR (36) (Figura 5). O Oraldisk é uma plataforma microfluidica em formato de disco que permite a identificação de 10 bactérias, sendo 7 associadas a periodontite (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Campylobacter rectus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* e *Treponema denticola*) e 3 associadas a cárie, (*S. mutans*, *Streptococcus sobrinus* e *Lactobacilli*). Pode ser utilizada nos consultórios para análise de saliva, a partir de uma recolha não invasiva e a técnica utilizada é baseada na técnica de PCR – RT: polymerase chain reaction – real time). Foi desenvolvido com o objetivo de monitorizar a saúde oral na prática clínica, a identificar os pacientes mais suscetíveis a periodontites e cáries a fim de ter um maior controlo sobre essas doenças. Para permitir essa monitorização, foi necessário acrescentar mais do que um biomarcador, por isso vem a ser muito utilizado para estudos de rastreio epidemiológico na medicina dentária. A grande vantagem do OralDisk é que o processamento das amostras é automatizado para a deteção de bactérias alvo. Isso ocorre devido a plataforma microfluidica que contem todos os reagentes bioquímicos necessários para esse processamento (36).



MyPerioPath® Salivary Diagnostic Test



Figura 4. Testes comercializados pelo laboratório OralDNA® Labs (testes OraRisk® HPV test, MyPerioPath® e OraRisk® Caries) e Dentocult®. Adaptado do site <https://www.oraldna.com> e <https://dentocult.jp/lineup>



Figura 5. Composição do OralDisk. Adaptado de Baumgartner et al 2001 (36).

No estudo de Dadamio et al (2012) (37) o OralChroma™ que é um teste enzimático para a deteção de gases de sulfeto com a medição de sulfeto de hidrogénio, metil mercaptano e dimetil sulfeto através da espectrometria gasosa (que indica o grau de halitose e o melhor tratamento a ser escolhido) foi associado ao uso de um teste enzimático colorimétrico de saliva para aminas a fim de permitir um novo teste “chair side” com um diagnóstico mais preciso devido à associação desse dois métodos (Figura 6). O diferencial desse teste é a deteção por meio da espectrometria de massas gasosa, pois na medicina dentária é uma técnica pouco utilizada. A vantagem desse teste em comparação a outros para halitose é a associação de dois testes para a criação desse no chair-side, proporcionando um teste mais barato com metodologias mais simples.

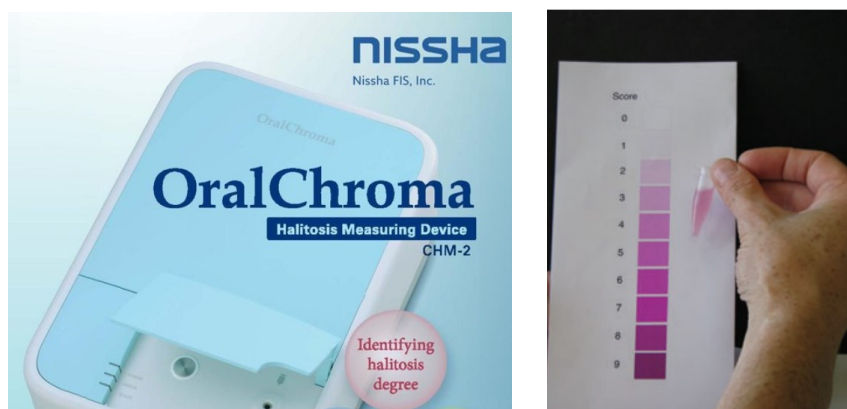


Figura 6. Testes para diagnóstico de halitose. Adaptado de Dadamio et al, 2012 (37).

OraQuick®, PerioSafe® e ImplantSafe® Kit são testes qualitativos para a deteção de anticorpos. São considerados testes rápidos uma vez que são testes imunológicos que podem ser realizados em casa e que não necessitam de grandes equipamentos tecnológicos, além disso são de fácil uso, rápido resultado e baixo custo. Isso permite uma boa monitorização, visto que é utilizado por qualquer pessoa em qualquer lugar (32, 38). A partir do momento que testes imunológicos são utilizados para monitorização e controlo de doenças, o interesse pela disponibilidade comercial aumenta, o que viabiliza financiamentos de indústrias farmacêuticas, laboratórios e empresários para a elaboração, aperfeiçoamento e viabilidade desses tipos de testes.

Ao longo dos anos, foi observado que a quantidade de biomarcadores identificados por um teste começou a aumentar. Isso foi uma necessidade de maior precisão no diagnóstico de diversas doenças, visto que foi percebido que muitas vezes um único biomarcador pode estar relacionado a outras doenças com características semelhantes de caráter inflamatório e perceberam que quanto mais biomarcadores tiverem presente em uma doença, maior precisão terá o teste.



Figura 7. Testes rápidos comercializados pela indústria farmacêutica. Adaptado de Rathnayake et al, 2017 (13) e <https://webshop.puredent.dk>

Numa segunda fase de desenvolvimento, os chips e biossensores começaram a destacar-se. Os biossensores são um método analítico que identifica e determina diferentes tipos de analitos presentes numa amostra (20). O biossensor é formado por três partes, primeiro o elemento é o sensor biológico que é um material que irá interagir com o analito presente na amostra. O segundo é o transdutor que transforma o sinal dessa interação em outro tipo de sinal, a fim de ser identificado e quantificado. O terceiro é um leitor do biossensor para exibir os resultados. Assim, a ideia é poder

fazer um teste rápido em qualquer amostra e lugar (20,39). Os biossensores podem diferenciar-se de acordo com o tipo de transdutor utilizado, permitindo assim a utilização para diversas doenças (36-37,40-41). A sua utilização permite a monitorização em tempo real através da ligação por aplicativos ou softwares que indicam a presença de determinados biomarcadores, desse modo possibilita o acompanhamento do desenvolvimento e estágios de doenças (29–31,38,40). Devido a essa tecnologia, é permitido a intervenção quando realmente é necessário e diminui os riscos expostos aos pacientes. O biossensor mais recente desenvolvido foi o eletronic tongue (e-tongue) (41), apresentando vantagens como o aumento da precisão do diagnóstico resultante da combinação da alta especificidade na resposta dos biossensores com o reconhecimento de padrões estratégicos. Esse dispositivo não permite identificar analitos específicos, mas permite fazer uma análise detalhada da amostra a partir da seletividade global, que consiste em dois elétrodos recobertos por filmes poliméricos que possui alta afinidade físico-química por moléculas da amostra, como se fossem uma “impressão digital”. Esses dois sensores formam um curto circuito a partir de um conjunto de capacitores que estão ligados em paralelo e no qual a distância entre os elétrodos é o diâmetro do microfio (canais microfluídicos). A seletividade global confere a esse biossensor uma grande vantagem e a partir desse novo conceito, técnicas estão a ser aperfeiçoadas e desenvolvidas, pois surgiu a necessidade de maior precisão nos diagnósticos. O esquema do e-tongue está ilustrado na figura 8.

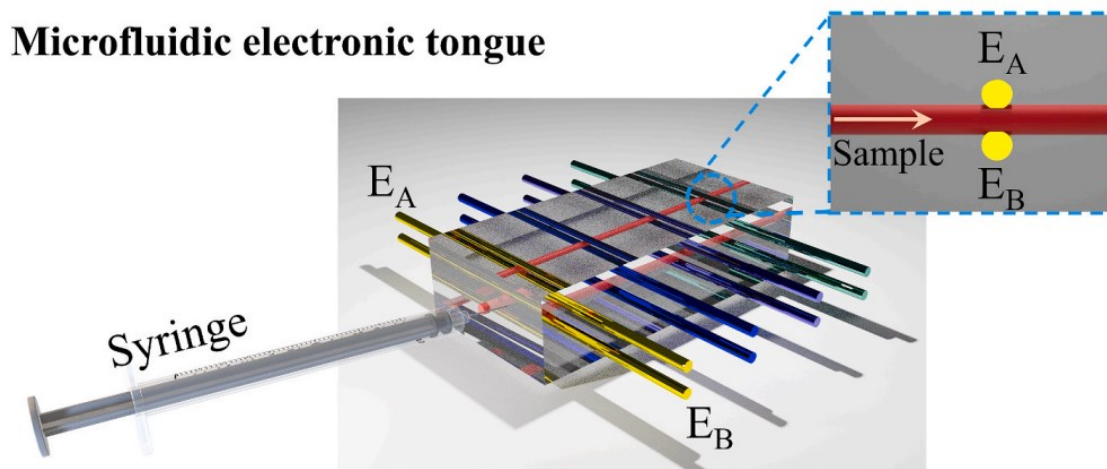


Figura 8. Representação esquemática da constituição do eletronic tongue. Adaptado de Braz et al, 2022 (41).

Foram também identificados testes colorimétricos que funcionam através da reação de enzimas para a modificação de cor (42). Esse teste funciona através de um biossensor com leitor portátil e display digital para a detecção de alfa-amilase. Apesar de não ser comercializado, é um teste validado com alta precisão. O sensor é semelhante a um aparelho de medição de glicose, na qual o coletor de saliva é colocado abaixo da língua e posteriormente é inserido no leitor, a reação da atividade enzimática com a amostra de saliva gera uma cor que é proporcional a quantidade de moléculas de alfa-amilase detetadas na amostra (Figura 9). A vantagem desse biossensor é a alta precisão o que permite uma informação real dos níveis de alfa amilase nas amostras.



Figura 9. Esquema e Biossensor para detecção de alfa-amilase. Adaptado de Shetty et al, 2011 (42).

Outro dos dispositivos identificados é o IMPOD (Integrated Microfluidic Platform for Oral Diagnostics), um dispositivo microfluídico portátil para detetar biomarcadores da doença periodontal, através de imunoenaios com chip microfluídicos (Figura 10).

A partir da eletroforese, é quantificada a concentração de analitos nas amostras em volumes reduzidos, constituindo uma vantagem do uso de técnicas microfluídicas. O chip microfluídico é acoplado a estruturas eletrônicas (micro e nanoscalas) e a um software para a aquisição e geração desses dados em informação. A utilização de tecnologias em micro e nano escalas permitiu o desenvolvimento dos testes conhecidos como “lab-on-a-chip” (40). A vantagem é um processamento das amostras rápido com um volume muito pequeno.

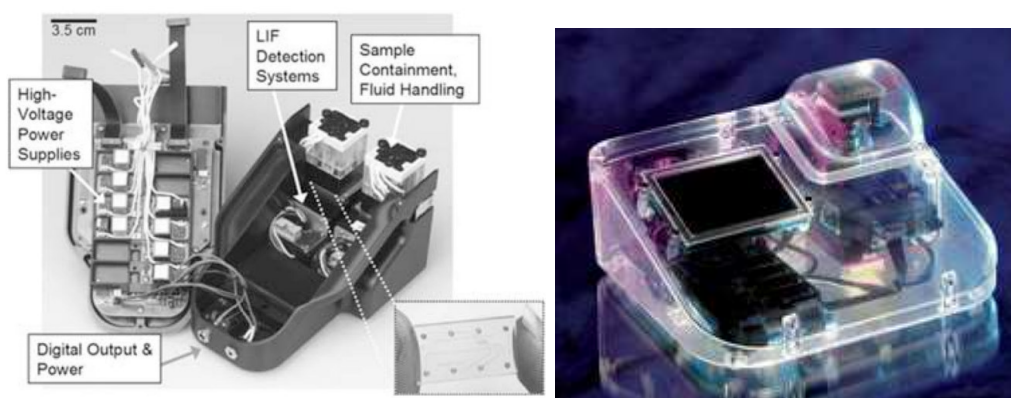


Figura 10. Plataforma do IMPOD para análise de biomarcadores. Adaptado de Herr et al, 2007 (40).

O OFNASET (Oral fluid nanosensor test) é uma tecnologia recente que funciona através de uma plataforma que combina tecnologias de ponta, como por exemplo, monocamadas automontadas, microfluidos e biotecnologia. Além disso, é uma técnica recente, de fácil uso, barata e automatizada que consegue detetar 6 biomarcadores em 15 minutos, com o objetivo de detetar múltiplos biomarcadores para cancro oral. Esses biomarcadores são proteínas salivares (thioredoxina e IL-8) e mRNA salivares de (SAT, ODZ, IL-8, e IL-1b) (43). É uma técnica muito sensível e específica, pois quanto mais biomarcadores identificados para uma determinada doença, maior a precisão dos resultados e consequentemente o diagnóstico. O OFNASET consiste num chip com um conjunto de sensores para a deteção eletroquímica desses biomarcadores através da ligação do mRNA ou proteínas alvo na superfície do sensor. Permite assim um rastreio de pacientes com potencial de desenvolvimento de cancro oral, servindo de indicação para a realização de uma biópsia num estágio mais precoce do cancro.



Figura 11. Sistema eletromecânico integrado OFNASET. Adaptado de Gau & Wong, 2007 (43).

De realçar que os testes IMPOD, OFNASET e OralDisk são dispositivos microfluídicos que utilizam alta tecnologia associadas a IA, a permitir o aperfeiçoamento de diagnóstico de várias doenças que há tempos atrás parecia impossível de acontecer. Isso se deve graças as grandes inovações tecnológicas e aprimoramento de técnicas. São tecnologias caras e que necessitam de profissionais na área de engenharia informática, pois os dados gerados precisam ser convertidos em informação útil. Isso é uma das desvantagens, pois implica em um grande investimento financeiro. Porém observa-se que está começar a ganhar importância. Tem-se verificado um aumento do desenvolvimento de novos testes e também correções para aperfeiçoar e melhorar os testes de diagnóstico já existentes. Outra desvantagem é a dificuldade em utilização pelos médico-dentistas. Os bionfórmáticos precisam desenvolver técnicas para facilitar a compreensão e leituras dos resultados para que possa ter uma maior aceitação pelos profissionais de saúde, uma vez que eles que são responsáveis pela aplicabilidade desses testes na rotina diária do consultório odontológico. Neste trabalho foi observado um grande avanço relativamente aos tipos de testes de diagnóstico e à inovação das técnicas utilizadas ao longo dos anos.

Para o desenvolvimento de biossensores como PoC ou LOC são necessários considerar alguns aspetos, como por exemplo, dispositivos portáteis, baratos, simples de usar e com alta sensibilidade e especificidade a fim de permitir o acesso a grande número de pessoas com o objetivo de rastreio e monitorização de doenças. Com o auxílio da IA e do *machine learning* (área da IA que desenvolve e estuda algoritmos

estatísticos baseado na ideia que os sistemas podem aprender através de dados e executar tarefas com reduzida intervenção humana) esses testes tornam-se viáveis e a cada dia mais detalhado. Os biossensores quando integrados a um dispositivo, ocorre a transferência e conversão dos dados e/ou espectros em informação útil para o profissional de saúde, seja médico ou médico dentista. Toda a informação gerada auxilia na tomada de decisões e na intervenção terapêutica e tem por objetivo a detecção precoce e monitorização de pacientes a fim de determinar um tratamento específico e personalizado a cada pessoa.

## 6. CONCLUSÃO

Os testes de diagnósticos em saliva estão em grande desenvolvimento, porém ainda há muito mais a evoluir. Foi realizado um levantamento dos testes de diagnóstico aplicados a medicina dentária e as áreas mais envolvidas foram periodontites, peri-implantites e cancro oral. Foi observada uma evolução nas tecnologias envolvidas nos testes, principalmente na quantidade de biomarcadores analisados, como por exemplo os testes que possuem apenas um biomarcador. O ideal seriam desenvolver testes com mais biomarcadores presentes para identificação de doenças e utilizar cada vez mais a seletividade global, a fim de determinar um “impressão digital” com detalhes específicos das amostras analisadas. As desvantagens do uso da medicina de precisão com recurso aos testes salivares são a necessidade de profissionais qualificados que possam identificar as informações geradas como por exemplo os bioinformáticos e engenheiros de informática que possam desenvolver softwares para a interpretação desses dados. Isso obriga a gastos avultados para a formação desses profissionais o que encarece os produtos. Há ainda um grande custo que é a tecnologia a ser utilizada e materiais caros. O médico dentista também deve ser treinado para o uso dessas tecnologias, pois se eles não souberem utilizar, não terá aplicabilidade clínica. Outra questão a considerar é que como o uso da saliva é algo recente, ainda não foram estabelecidos valores de referência para os biomarcadores na saliva para ser considerada saudável, como por exemplo o que ocorre nas análises sanguíneas na qual temos um valor padrão de saúde e o que estiver fora desses valores são considerada doenças. Os estudos apenas realizam comparações entre saudáveis e doentes, porém não se sabe sobre os valores para o limite entre a transição da saúde para a doença. Isso se deve ao interesse econômico e fins comerciais dos laboratórios e empresários para os testes salivares. Serão necessários estudos futuros para validação de novos testes de medicina dentária de precisão com o objetivo de otimizar, personalizar e diminuir efeitos colaterais de tratamentos. Além disso, precisa também de aprimorar as técnicas utilizadas para melhorar a eficácia de diagnóstico e facilitar a aplicabilidade dos testes.

## 7. BIBLIOGRAFIA

1. Marsh PD, Do T, Beighton D, Devine DA. Influence of saliva on the oral microbiota. *Periodontol 2000*. fevereiro de 2016;70(1):80–92.
2. Dawes C, Wong DTW. Role of Saliva and Salivary Diagnostics in the Advancement of Oral Health. *J Dent Res*. fevereiro de 2019;98(2):133–41.
3. Boroumand M, Olianas A, Cabras T, Manconi B, Fanni D, Faa G, et al. Saliva, a bodily fluid with recognized and potential diagnostic applications. *J Sep Sci*. outubro de 2021;44(19):3677–90.
4. Zhang Y, Sun J, Lin CC, Abemayor E, Wang MB, Wong DTW. The emerging landscape of salivary diagnostics. *Periodontol 2000*. fevereiro de 2016;70(1):38–52.
5. Zhang A, Sun H, Wang P, Wang X. Salivary proteomics in biomedical research. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 16 de janeiro de 2013;415:261–5.
6. Wu Y, Shu R, Luo LJ, Ge LH, Xie YF. Initial comparison of proteomic profiles of whole unstimulated saliva obtained from generalized aggressive periodontitis patients and healthy control subjects. *J Periodontal Res*. outubro de 2009;44(5):636–44.
7. Hartenbach FARR, Velasquez É, Nogueira FCS, Domont GB, Ferreira E, Colombo APV. Proteomic analysis of whole saliva in chronic periodontitis. *J Proteomics*. 20 de fevereiro de 2020;213:103602.
8. Helmerhorst EJ, Dawes C, Oppenheim FG. The complexity of oral physiology and its impact on salivary diagnostics. *Oral Dis*. abril de 2018;24(3):363–71.
9. Schafer CA, Schafer JJ, Yakob M, Lima P, Camargo P, Wong DTW. Saliva diagnostics: utilizing oral fluids to determine health status. *Monogr Oral Sci*. 2014;24:88–98.

10. Ghallab NA. Diagnostic potential and future directions of biomarkers in gingival crevicular fluid and saliva of periodontal diseases: Review of the current evidence. *Arch Oral Biol.* março de 2018;87:115–24.
11. Lee JM, Garon E, Wong DT. Salivary diagnostics. *Orthod Craniofac Res.* agosto de 2009;12(3):206–11.
12. Wu Y, Feng Y, Shu R, Chen Y, Liu H. Proteomic analysis of saliva obtained from patients with chronic periodontitis. 30 de agosto de 2016;9:15540–6.
13. Rathnayake N, Akerman S, Klinge B, Lundegren N, Jansson H, Tryselius Y, et al. Salivary biomarkers of oral health: a cross-sectional study. *J Clin Periodontol.* fevereiro de 2013;40(2):140–7.
14. Saliva in the “Omics” era: A promising tool in paediatrics - Pappa - 2019 - Oral Diseases - Wiley Online Library [Internet]. [citado 27 de março de 2024]. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/odi.12886>
15. Belstrøm D, Jersie-Christensen RR, Lyon D, Damgaard C, Jensen LJ, Holmstrup P, et al. Metaproteomics of saliva identifies human protein markers specific for individuals with periodontitis and dental caries compared to orally healthy controls. *PeerJ.* 2016;4:e2433.
16. Lourenço TGB, Heller D, Silva-Boghossian CM, Cotton SL, Paster BJ, Colombo APV. Microbial signature profiles of periodontally healthy and diseased patients. *J Clin Periodontol.* novembro de 2014;41(11):1027–36.
17. Belstrøm D, Constancias F, Liu Y, Yang L, Drautz-Moses DI, Schuster SC, et al. Metagenomic and metatranscriptomic analysis of saliva reveals disease-associated microbiota in patients with periodontitis and dental caries. *Npj Biofilms Microbiomes.* 2 de outubro de 2017;3(1):1–8.
18. Divaris K. Fundamentals of precision medicine. *Compend Contin Educ Dent Jamesburg NJ 1995.* setembro de 2017;38(8 Suppl):30–2.
19. Lorenz K, Keller T, Noack B, Freitag A, Netuschil L, Hoffmann T. Evaluation of a novel point-of-care test for active matrix metalloproteinase-8: agreement between

- qualitative and quantitative measurements and relation to periodontal inflammation. *J Periodontal Res.* abril de 2017;52(2):277–84.
20. Arakawa T, Dao DV, Mitsubayashi K. Biosensors and Chemical Sensors for Healthcare Monitoring: A Review. *IEEJ Trans Electr Electron Eng.* 2022;17(5):626–36.
  21. Ginsburg G. Medical genomics: Gather and use genetic data in health care. *Nature.* abril de 2014;508(7497):451–3.
  22. Dietz HC. New therapeutic approaches to mendelian disorders. *N Engl J Med.* 26 de agosto de 2010;363(9):852–63.
  23. Khan RS, Khurshid Z, Yahya Ibrahim Asiri F. Advancing Point-of-Care (PoC) Testing Using Human Saliva as Liquid Biopsy. *Diagn Basel Switz.* 4 de julho de 2017;7(3):39.
  24. Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ.* 29 de março de 2021;372:n71.
  25. Ouzzani M, Hammady H, Fedorowicz Z, Elmagarmid A. Rayyan—a web and mobile app for systematic reviews. *Syst Rev.* 5 de dezembro de 2016;5.
  26. Shahid A, Channaiah SG, Misra N, Narayanappa SM. Hidden wonders in a spit: Novel technologies for salivary diagnostics. *J Indian Acad Oral Med Radiol.* março de 2020;32(1):41.
  27. Song CK, Oh E, Kang MS, Shin BS, Han SY, Jung M, et al. Fluorescence-based immunosensor using three-dimensional CNT network structure for sensitive and reproducible detection of oral squamous cell carcinoma biomarker. *Anal Chim Acta.* 16 de outubro de 2018;1027:101–8.
  28. Ding S, Das SR, Brownlee BJ, Parate K, Davis TM, Stromberg LR, et al. CIP2A immunosensor comprised of vertically-aligned carbon nanotube interdigitated electrodes towards point-of-care oral cancer screening. *Biosens Bioelectron.* 15 de outubro de 2018;117:68–74.

29. Ritzer J, Lühmann T, Rode C, Pein-Hackelbusch M, Immohr I, Schedler U, et al. Diagnosing peri-implant disease using the tongue as a 24/7 detector. *Nat Commun.* 15 de agosto de 2017;8(1):264.
30. Zhang W, Du J, Wang K, Li Y, Chen C, Yang L, et al. Integrated dual-channel electrochemical immunosensor for early diagnosis and monitoring of periodontitis by detecting multiple biomarkers in saliva. *Anal Chim Acta.* 22 de março de 2023;1247:340878.
31. Kim JJ, Stafford GR, Beauchamp C, Kim SA. Development of a Dental Implantable Temperature Sensor for Real-Time Diagnosis of Infectious Disease. *Sensors.* 16 de julho de 2020;20(14):3953.
32. Reynolds SJ, Muwonga J. OraQuick ADVANCE Rapid HIV-1/2 antibody test. *Expert Rev Mol Diagn.* 2004; Sep;4(5):587-591.
33. Karjalainen S, Söderling E, Pienihäkkinen K. Validation and inter-examiner agreement of mutans streptococci levels in plaque and saliva of 10-year-old children using simple chair-side tests. *Acta Odontol Scand.* junho de 2004;62(3):153–7.
34. Mcglennen, R. Oral DNA® Labs. 2008. Disponível em <https://www.oraldna.com/> Acesso em: 20 jun. 2024.
35. Javaid MA, Ahmed AS, Durand R, Tran SD. Saliva as a diagnostic tool for oral and systemic diseases. *J Oral Biol Craniofacial Res.* 2016;6(1):66–75.
36. Baumgartner D, Johannsen B, Specht M, Lüddecke J, Rombach M, Hin S, et al. OralDisk: A Chair-Side Compatible Molecular Platform Using Whole Saliva for Monitoring Oral Health at the Dental Practice. *Biosensors.* 28 de outubro de 2021;11(11):423.
37. Dadamio J, Van Tornout M, Vancauwenberghe F, Federico R, Dekeyser C, Quirynen M. Clinical utility of a novel colorimetric chair side test for oral malodour. *J Clin Periodontol.* julho de 2012;39(7):645–50.

38. Nwhator SO, Ayanbadejo PO, Umeizudike KA, Opeodu OI, Agbelusi GA, Olamijulo JA, et al. Clinical correlates of a lateral-flow immunoassay oral risk indicator. *J Periodontol.* janeiro de 2014;85(1):188–94.
39. Hasanzadeh M, Shadjou N, Mokhtarzadeh A, Ramezani M. Two dimension (2-D) graphene-based nanomaterials as signal amplification elements in electrochemical microfluidic immune-devices: Recent advances. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 1 de novembro de 2016;68:482–93.
40. Herr AE, Hatch AV, Giannobile WV, Throckmorton DJ, Tran HM, Brennan JS, et al. Integrated Microfluidic Platform for Oral Diagnostics. *Ann N Y Acad Sci.* março de 2007;1098:362–74.
41. Braz DC, Neto MP, Shimizu FM, Sá AC, Lima RS, Gobbi AL, et al. Using machine learning and an electronic tongue for discriminating saliva samples from oral cavity cancer patients and healthy individuals. *Talanta.* 1 de junho de 2022;243:123327.
42. Shetty V, Zigler C, Robles TF, Elashoff D, Yamaguchi M. Developmental validation of a point-of-care, salivary  $\alpha$ -amylase biosensor. *Psychoneuroendocrinology.* fevereiro de 2011;36(2):193–9.
43. Gau V, Wong D. Oral fluid nanosensor test (OFNASET) with advanced electrochemical-based molecular analysis platform. *Ann N Y Acad Sci.* março de 2007;1098:401–10.

## ANEXO

Composição do júri:

**Presidente:** Prof. Doutor André Correia

(Professor associado da Universidade Católica Portuguesa – Faculdade Medicina Dentária/Centro de Investigação Interdisciplinar em Saúde – Viseu, Portugal)

**Arguente:** Prof. Doutora Karina Mendes

(Investigadora Júnior da Universidade Católica Portuguesa – Faculdade Medicina Dentária/Centro de Investigação Interdisciplinar em Saúde – Viseu, Portugal)

**Orientador:** Prof. Doutor Nuno Rosa

(Professor associado da Universidade Católica Portuguesa – Faculdade Medicina Dentária/Centro de Investigação Interdisciplinar em Saúde – Viseu, Portugal)

Data da prova pública: 24/07/2024