



Saliva como ferramenta diagnóstico na detecção de infecções virais por zika vírus

Saliva as a diagnostic tool in the detection of viral infections by zika virus

La saliva como herramienta de diagnóstico en la detección de infecciones virales por el virus zika

Aline Maria Rodrigues dos Santos¹, João Vitor da Silva¹, José Anderson da Silva Gomes¹, Elba Verônica Matoso Maciel de Carvalho², Fernanda Carolina Ribeiro Dias³, Jadyel Sherdelle Guedes do Nascimento¹, Ryan Cristian da Silva¹, Bruno Mendes Tenorio¹, Jaciel Benedito de Oliveira⁴, Fernanda das Chagas Angelo Mendes Tenorio¹.

RESUMO

Objetivo: Fornecer informações sobre a saliva como ferramenta de diagnóstico para infecções por ZIKV.

Revisão bibliográfica: O vírus zika (ZIKV) é um arbovírus transmitido por artrópodes, principalmente pelo mosquito *Aedes*. Todos os anos, as infecções causadas por arboviroses contribuem para o aumento da morbimortalidade humana em todo o mundo, tendo repercussões clínicas em larga escala. Muitas áreas de pesquisa envolvem fluidos corporais como ferramenta de diagnóstico. A saliva humana através de sua composição, pode ser utilizada como método de diagnóstico, prevenção e tratamento de algumas doenças. A saliva humana se apresenta como uma fonte de informação não invasiva e que pode ser facilmente coletada. Nessa revisão buscou-se investigar as formas de detecção do vírus através da saliva como forma de diagnóstico e suas possíveis alterações a nível tecidual nas glândulas salivares. **Considerações finais:** Segundo a literatura, os biomarcadores presentes na saliva se apresentam como uma ferramenta para possível diagnóstico do ZIKV.

Palavras-chave: Zika vírus, Saliva, Glândula salivar.

ABSTRACT

Objective: Provide information on saliva as a diagnostic tool for ZIKV infections. **Literature review:** The Zika virus (ZIKV) is an arbovirus transmitted by arthropods, mainly by the aedes mosquito. Each year, infections caused by arboviruses contribute to the increase in human morbidity and mortality worldwide, with widespread clinical repercussions. Many areas of research involve bodily fluids as a diagnostic tool. Human saliva, due to its composition, can be used as a method for the diagnosis, prevention, and treatment of certain diseases. Human saliva serves as a non-invasive source of information that can be easily collected. This review aimed to investigate the methods of detecting the virus through saliva as a diagnostic tool and its potential tissue-level alterations in salivary glands. **Final considerations:** According to the literature, biomarkers present in saliva serve as a tool for the potential diagnosis of ZIKV.

Keywords: Zika virus, Saliva, Salivary gland.

¹ Universidade Federal de Pernambuco. Recife – PE.

² Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba – MG.

RESUMEN

Objetivo: Proporcionar información sobre la saliva como herramienta de diagnóstico de infecciones por ZIKV. **Revisión bibliográfica:** El virus Zika (ZIKV) es un arbovirus transmitido por artrópodos, principalmente por el mosquito *Aedes*. Cada año, las infecciones causadas por arbovirus contribuyen a un aumento de la morbilidad y mortalidad humana en todo el mundo, con repercusiones clínicas a gran escala. Muchas áreas de investigación involucran fluidos corporales como herramienta de diagnóstico. La saliva humana, a través de su composición, puede utilizarse como método de diagnóstico, prevención y tratamiento de algunas enfermedades. La saliva humana se presenta como una fuente de información no invasiva que puede recopilarse fácilmente. Esta revisión buscó investigar formas de detección del virus a través de la saliva como forma de diagnóstico y sus posibles cambios a nivel tisular en las glándulas salivales. **Consideraciones finales:** Según la literatura, los biomarcadores presentes en la saliva se presentan como una herramienta para el posible diagnóstico de ZIKV.

Palabras clave: Virus zica, Saliva, Glándula salival.

INTRODUÇÃO

Os arbovírus são um grupo diversificado de vírus transmitidos por vetores, muitos dos quais são a causa de significativa morbidade e mortalidade humana. Nos últimos 30 anos, o surgimento e/ou ressurgimento de arbovírus representaram uma ameaça considerável à saúde global (YOUNG PR, 2018). Dentre as arboviroses podemos destacar o vírus Zika (ZIKV), doença causada por um grupo de arbovírus pertencente à família Flaviridae do gênero *Flavivirus*, juntamente com DENVs (vírus da Dengue) e WNV (vírus do Nilo ocidental), e é transmitido principalmente aos seres humanos através da picada de uma fêmea infectada do mosquito *Aedes aegypti* ou *Aedes albopictus* (CUNHA LS, et al., 2020; DIAS IKR, 2018; HALANI S, et al., 2021).

A espécie *Aedes aegypti* é a mais eficiente para transmissão das doenças arbovirais, sendo responsável, por exemplo, pela transmissão da dengue, zika, chikungunya e mayaro (LETA S, et al., 2018; LOPES N, et al., 2014). O ZIKV também pode ser transmitido por vários mosquitos *Aedes*, como *Aedes henselii*, *Aedes polynesiensis* e *Aedes albopictus* (MUSSO D, GUBLER DJ, 2016). A fêmea do mosquito é contaminada quando se alimenta do sangue de uma pessoa infectada durante o período febril inicial (viremia); o vírus se aloja nas células que revestem o intestino e depois se espalha para outros tecidos do inseto, como a glândula salivar, onde permanece até o momento da transmissão. Os vírus parecem não ter nenhum efeito adverso sobre o inseto, que permanece infectado por toda a vida sem apresentar sintomas (AGHAIE A, et al., 2014).

A detecção do ZIKV foi inicialmente limitada ao soro e líquido cefalorraquidiano. Mais tarde, o foco voltou-se para outros fluidos, incluindo urina, saliva e líquido amniótico e tecidos para testes de diagnóstico (RABE IB, et al., 2016). Indivíduos que apresentam infecções por ZIKV são principalmente assintomáticos, mas manifestações graves podem ocorrer em adultos, recém-nascidos ou fetos de mulheres grávidas infectadas. Casos fatais associados a infecções por ZIKV foram relatados principalmente em fetos, pacientes imunossuprimidos e aqueles com comorbidades (MUSSO D, et al., 2019).

O diagnóstico do ZIKV depende principalmente da detecção de ácidos nucleicos virais no soro, detecção de anticorpos IgM ou, raramente, por isolamento viral realizado por laboratórios especializados (LANDRY ML, GEORGE KST, 2017). No entanto, o diagnóstico pode ser desafiador devido à manifestação clínica inespecífica e restrições técnicas e de infraestrutura de ensaios laboratoriais (LOYOLA S, et al., 2022). A saliva vem sendo amplamente estudada para análise da situação saúde-doença nos indivíduos, não só na Odontologia, mas também na Medicina, para diagnóstico de diabetes mellitus, doenças autoimunes e também o câncer; devido sua facilidade na coleta e extração indolor, e para detectar todas essas doenças, primeiro faz-se necessário o mapeamento do proteoma salivar humano em condições normais. (PFAFFE T, et al., 2011). Durante as últimas décadas, a saliva humana foi identificada como tendo características

significativas para auxiliar na avaliação sistêmica e saúde bucal. Notavelmente, a saliva humana tem sido chamada de “espelho da saúde do corpo” (PRASAD VM, et al., 2017).

A presença de vírus viáveis em amostras de fluido oral é normalmente demonstrada pela triagem de ácidos nucleicos virais. Biomoléculas específicas derivado de qualquer vírus que circula na corrente sanguínea ou presentes na mucosa provavelmente também estão presentes em uma amostra oral (CORSTJENS PL, 2015). Deste modo, o presente objetivo foi fornecer informações sobre a saliva como ferramenta de diagnóstico para infecções por ZIKV.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Características da infecção pelo vírus Zika

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), todos os anos, bilhões de pessoas são infectadas e mais de um milhão morrem por causa dos arbovírus (LETA S, et al., 2018). O ZIKV é um vírus de RNA fita simples e envelopado (PRASAD VM, et al., 2017), e seu ciclo de transmissão inclui principalmente vetores do gênero *Aedes* e macacos, ao passo que os humanos são hospedeiros eventuais (HAYES EB, 2009). As análises filogenéticas indicaram claramente que o ZIKV pode ser agrupado em duas linhagens distintas - linhagem asiática e linhagem africana, com base nas sequências completas do genoma obtidas do Centro Nacional de Informações sobre Biotecnologia (NCBI) e análises usando o *software Molecular Evolutionary Genetic Analysis* (MEGA).

Além disso, as linhagens evolutivas que mudam ao longo do tempo, apoiam a distribuição geográfica do ZIKV desde 1947 (Uganda) até o seu primeiro isolamento relatado como linhagem não africana em 1969 (Malásia) até a recente epidemia generalizada de febre Zika em 2015 (do Brasil às Américas do Norte e do Sul) (THAM HW, et al., 2018). A infecção por ZIKV em humanos foi relatada na Uganda e na República Unida da Tanzânia em 1952. Surto de ZIKV foram relatados nas Ilhas de Yap, Polinésia Francesa, América e Brasil durante 2007–2016 (MUSTAFA YM, et al., 2019). O ZIKV ganhou notoriedade em escala global a partir de seu recente ressurgimento e rápida disseminação nas Américas no ano de 2015, se espalhando para vários países (DIAS IKR, 2018; HALANI S, et al., 2021).

No Brasil, o registro da primeira transmissão autóctone ocorreu no Nordeste, que, devido às condições socioeconômicas e climáticas, propiciou a proliferação de vetores nos ambientes urbanos e a disseminação do vírus para outras regiões do país (HALANI S, et al., 2021; MARTINS MM, 2020; SAMPAIO GS, et al., 2019). Este surgiu como uma ameaça à saúde global devido ao seu potencial de gerar epidemias explosivas e sua capacidade de causar doenças congênitas no contexto da infecção durante a gravidez. Tal evidência ficou clara após o surto de casos no Brasil e nos Estados Unidos da América entre 2015 e 2016. Atualmente o ZIKV continua a circular em muitas partes do mundo e é um patógeno emergente de enorme importância para a saúde pública dos seres humanos (PIERSON TC e DIAMOND MS, 2018; KHURSHID Z, et al., 2019).

Fatores ambientais, como a temperatura, precipitação e tipo de vegetação, restringem a distribuição geográfica dos arbovírus. Esses fatores são limitantes para a distribuição dos vetores e dos vertebrados, que são importantes reservatórios necessários para a continuidade do ciclo de replicação do vírus (LOPES N, et al., 2014). Esta espécie de mosquito prospera tanto em água doce como estagnada, em recipientes que variam de barris a tampas de garrafas, e coloniza residências humanas (SAMPALIO GS, et al., 2019).

O principal modo de transmissão é vetorial, através da injeção de saliva infecciosa através da picada de mosquitos *Aedes*, especialmente *Aedes aegypti*. O ZIKV também pode ser transmitido por vários mosquitos *Aedes*, como *Aedes hensillii*, *Aedes polynesiensis* e *Aedes albopictus* (MUSSO D e GUBLER DJ, 2016). A transmissão não vetorial da infecção pelo ZIKV pode ocorrer verticalmente (transmissão de mãe para filho), sexualmente (de indivíduos sintomáticos e assintomáticos), por transfusão, via medula óssea ou transplante de órgãos (MARBAN-CASTRO E, et al., 2021). A maioria dos arbovírus transmitidos por artrópodes com importância para a saúde pública são transmitidos por mosquitos (ARCA B, et al., 1999). Ao picar um

hospedeiro infectado, os mosquitos fêmeas ingerem vírus que primeiro infectam o intestino médio do mosquito e depois se disseminam por todo o corpo do mosquito antes de finalmente atingirem as glândulas salivares, de onde o vírus é secretado durante uma picada subsequente (CHOWDHURY A, et al., 2021). A saliva do mosquito contém um coquetel de moléculas biologicamente ativas com funções na homeostasia, inflamação e imunidade (SCHNEIDER BS e HIGGS S, 2008).

A infecção sintomática com ZIKV é geralmente caracterizada por febre baixa, artralgia, mialgia, cefaléia e conjuntivite, embora até 80% dos casos possam ser assintomáticos [50-80%]. Quando a infecção pelo vírus zika se manifesta clinicamente, os sintomas típicos duram entre 4 e 7 dias (HALANI S, et al., 2021). Os portadores da doença podem transmitir o vírus a mosquitos não infectados ou a outros indivíduos por meio de secreções genitais (CASTELLANOS JE, 2017).

Estrutura e função das glândulas salivares

As glândulas salivares se desenvolvem em localizações distintas e exibem arquiteturas notavelmente diversas, resultando na produção de diferentes tipos de saliva. No contexto das principais glândulas salivares, encontramos três pares fundamentais: as glândulas parótidas, submandibulares e sublinguais. A pesquisa das análises morfológicas, histoquímicas e ultra estruturais das glândulas salivares em várias espécies de mamíferos tem sido objeto de considerável estudo (KHOJASTEH SMB e DELASHOUB M, 2012). Estas glândulas desempenham um papel vital nos animais terrestres, provendo lubrificação para a alimentação e vocalização, auxiliando na digestão e contribuindo para o tamponamento do pH. As glândulas salivares em mamíferos consistem em unidades secretoras terminais e sistemas de ductos, cujas estruturas variam não apenas entre diferentes tipos de glândulas salivares, mas também entre distintas espécies (KHOJASTEH SMB e DELASHOUB M, 2012).

Em humanos, a glândula submandibular está localizada no nível B1 do pescoço, inferior à mandíbula, superior ao hioide e posterior ao ventre anterior do músculo digástrico, enquanto em camundongos está localizado na região subcutânea cervical ventral (MARKEY JD, et al., 2017). Histologicamente, as glândulas submandibulares apresentam cápsula fibrosa externa que emite delicados septos dividindo a glândula em lobos e lóbulos. As glândulas submandibulares são compostas por glândulas serosas e glândulas mucosas (JAEGER RG e FREITAS VM, 2016). No septo de tecido conjuntivo, existem vasos sanguíneos e nervos, além dos ductos excretórios interlobulares.

O parênquima glandular salivar consiste em estruturas secretoras terminais que se abrem em uma série de ductos (KATCHBURIAN E e ARANA CHAVEZ VE, 2012). Os tipos de células encontradas nas glândulas salivares são células acinares, várias células do sistema de ductos e células epiteliais mioepiteliais. As células acinares, nas quais a saliva é secretada primeiro, determinam o tipo de secreção produzida pelas diferentes glândulas. A secreção pode ser classificada como serosa, mucosa ou mista; as secreções serosas são produzidas principalmente pela glândula parótida, as secreções mucosas pelas glândulas salivares menores e as secreções mistas pelas glândulas sublingual e submandibular (LEE YH e WONG DT, 2009).

Presença do vírus Zika nas glândulas salivares

A saliva é um fluido biológico ácido (pH 6–7) composto de secreções das três glândulas salivares maiores (parótida, submandibular, sublingual) e das glândulas menores (ou seja, labial, tecidos bucal, lingual e palatino), fluido crevicular gengival, detritos celulares, placa, bactérias, secreções nasais e brônquicas, células de revestimento, sangue e substâncias exógenas (LEE YH, WONG DT, 2009). O fluxo diário médio de saliva total varia em saúde entre 1 e 1,5 L, com produção de 20% da parótida, 65% da submandibular, 7% a 8% da sublingual e menos de 10% de numerosas glândulas salivares menores (EDGAR WM, 1990).

De acordo com Musso D, et al. (2015) a eliminação de RNA do ZIKV na saliva foi observada em 48% dos pacientes testados durante a primeira semana após o início dos sintomas, ou seja, com mais frequência, embora não por mais tempo, do que no plasma. Para Zuanazzi D, et al. (2017) a origem das

proteínas do ZIKV presentes na saliva é desconhecida, mas seu estudo sugere que o ZIKV pode estar latente nas glândulas salivares. Se houver vírus presente no epitélio da glândula salivar ou no tecido conjuntivo circundante, prevemos que também haverá RNA detectável.

Por esta razão tem sido proposto há várias décadas que a saliva poderia ser um fluido adequado para uso em testes diagnósticos, com base na amostragem não invasiva, na fácil coleta e na possibilidade de múltiplas amostras subsequentes colhidas sem a necessidade de treinamento extensivo (CASTELLANOS YE, 2017). A frequência do uso de testes orais para doenças virais e bacterianas estão aumentando onde as principais vantagens desses testes são o baixo custo, fácil aceitação do paciente, equivalência aos exames de sangue e a possibilidade de realização dos testes em casa (CORSTJENS PL, 2015). O vírus derivado da saliva parece ter um título mais elevado do que o do soro ou da urina, conforme determinado pelo efeito citopático nas culturas de células vivas (CASTELLANOS YE, 2017).

Desde a sua descoberta, o ZIKV foi identificado em diferentes amostras biológicas como saliva, urina, sangue, leite materno, líquido cefalorraquidiano, sêmen, dentre outros tecidos (DIAS IKR, 2018; MARTINS MM, 2020; LOBKOWICZ ZL, 2020; HALANI S, et al., 2021). Além da presença de carga de RNA do ZIKV no encéfalo de fetos, a presença do ZIKV no sangue, sêmen, urina e saliva, sugere que a transmissão poderia ser também por esses fluidos corporais (MARTINES RB, et al., 2016). O RNA do ZIKV foi encontrado no sêmen de homens com infecção sintomática e assintomática e Mansuy JM, et al. (2016) descreveram, em seu estudo, a presença de carga viral elevada para o mesmo material biológico citado acima. De acordo com alguns estudos, a excreção do vírus no sêmen pode ocorrer por um longo período, sendo: 62 dias após o início da doença; 80 dias e até 141 dias, sendo este mais longo que o período descrito no sangue ou urina, sugerindo a possibilidade de transmissão sexual durante meses após a resolução sintomática da doença.

A presença do RNA do ZIKV foi detectada em esfregaços faríngeos limitado a dois casos: uma mordida por macaco infectado e o outro um viajante canadense. Estudos experimentais recentes sugeriram que o ZIKV se replica e produz partículas infecciosas em células respiratórias superiores humanas e que a orofaringe e a mucosa oral eram rotas potenciais de infecção (LEUNG GHY, et al., 2015). Atualmente, o uso de esfregaços faríngeos não faz parte da amostragem recomendada para o diagnóstico laboratorial da infecção pelo ZIKV. No entanto, esses achados sugeriram que swabs faríngeos poderiam ser usados como amostra complementar em casos suspeitos de infecção pelo ZIKV com resultados laboratoriais negativos em outras amostras usadas como soro (LOYOLA S, et al., 2022).

No estudo de Loyola S, et al. (2022), os resultados sugerem fortemente que o ZIKV pode ser detectado por meio de swabs orofaríngeos coletados de pacientes com sintomas clínicos sugestivos de doenças febris agudas (febre, dor de cabeça, mal-estar/dores no corpo, dor de garganta e dificuldade respiratória) que foram negativos para ZIKV em suas amostras de soro agudo e para múltiplos vírus testado por uma variedade de abordagens de diagnóstico laboratorial. A detecção do ZIKV em swabs faríngeos é consistente com casos relatados por Leung GHY, et al. (2015) com experimentos que sugerem a presença de replicação e detecção do ZIKV na mucosa orofaríngea.

O uso da saliva, como ferramenta diagnóstico nos oferece uma oportunidade para análises/ diagnósticos moleculares e proteômicos mais simples e eficientes do ZIKV (KHURSHIDA D, et al., 2019). Durante as últimas décadas, a saliva humana foi identificada como tendo características significativas para auxiliar na avaliação sistêmica e saúde bucal. Quando realizamos a coleta de saliva, junto com os componentes salivares, vemos também a presença de compostos presentes na cavidade bucal, como: células derivadas da descamação epitelial oral, produtos microbianos e proteínas presentes no sangue que chegam por meio da difusão, transporte ativo e filtração (HUMPHREY SP e WILLIAMSON RT, 2001).

Na secreção salivar, pequenas moléculas podem entrar na saliva a partir do soro sanguíneo, passando pelas barreiras capilares, espaços intersticiais e membranas das células acinares / ductais até que a saliva seja excretada pelos ductos excretadores. Essas rotas complexas e a composição dinâmica da saliva contribuem como um meio de diagnóstico ativo (SIQUEIRA WL, et al., 2008). Os biomarcadores presentes

na saliva têm emergido como uma opção atrativa para a detecção precoce de doenças sistêmicas. Biomarcadores são moléculas presentes nos fluidos dos seres humanos que podem indicar uma doença ou condição biológica normal. Vários biomarcadores podem ser encontrados na saliva humana, de metais pesados até proteínas, que nos últimos anos tem gerado um grande número de pesquisas para o diagnóstico de diversas doenças, despertando a curiosidade de pesquisadores científicos (SOO-QUEE KD e CHOON-HUAT KG, 2007).

A saliva é um fluido biológico dinâmico composto principalmente por cerca de 98% de água, enquanto os 2% restantes consistem em uma variedade de componentes orgânicos e inorgânicos, incluindo eletrólitos, muco, enzimas, proteínas/peptídeos, ácidos nucleicos e uma diversidade de microrganismos, incluindo vírus. Isso aponta para uma notável estabilidade bioquímica do RNA e das proteínas presentes na saliva. Um fenômeno interessante é observado no equilíbrio entre a degradação do RNA e das proteínas (KHURSHIDA D, et al., 2019). Musso D, et al. (2015) investigaram o uso da saliva como uma amostra alternativa para a detecção rotineira do RNA do ZIKV. Seus resultados demonstraram que o ZIKV foi detectado com mais frequência na saliva do que no sangue.

Para os 182 pacientes analisados no experimento, com ambas as amostras coletadas, os testes foram positivos para 35 (19,2%) na saliva, enquanto negativos no sangue e os testes foram positivos para 16 (8,8%) no sangue, enquanto negativos na saliva. O uso de amostra de saliva aumentou a taxa de detecção molecular do ZIKV na fase aguda da doença, mas não ampliou a janela de detecção do RNA do ZIKV. A saliva era de particular interesse quando o sangue era difícil de coletar (especialmente crianças e neonatos). Nesse contexto, as nucleases demonstram uma maior eficiência na degradação do RNA do que as proteases na degradação de proteínas. Como resultado, as proteínas/peptídeos do ZIKV podem persistir por um período mais prolongado em comparação com o RNA do ZIKV na saliva, mesmo durante a fase de recuperação da infecção.

Isso tem o potencial de simplificar o diagnóstico da doença. É importante destacar que a degradação de proteínas na saliva é influenciada por um processo de proteólise, o qual é causado pela presença de bactérias e enzimas provenientes do hospedeiro que estão presentes na cavidade oral (ZUANAZZI D, et al., 2017; KHURSHID D, et al., 2019). Dessa forma, a utilização das secreções glandulares do corpo humano, particularmente da saliva, como ferramenta de diagnóstico fornece uma oportunidade para soluções eficientes na análise proteômica/diagnóstico de ZIKV. Esses resultados serão benéficos para o estudo da tecnologia de ponto de atendimento (POC) e de desenvolvimento de biossensores.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo dos arbovírus, especificamente o ZIKV evidencia a complexidade e importância de um diagnóstico eficaz para o controle e manejo das infecções. A transmissão do ZIKV, principalmente por mosquitos do gênero *Aedes*, e sua capacidade de persistir em diversos fluidos corporais, incluindo saliva, sublinham a necessidade de métodos de detecção precisos e acessíveis. A literatura nos mostra que a saliva pode ser uma ferramenta promissora para o diagnóstico não invasivo do ZIKV devido à sua facilidade de coleta e alta frequência de detecção de RNA viral em comparação ao sangue. Este método de coleta não só melhoraria a resposta a surtos epidêmicos, mas também podendo ser integrado em estratégias de controle de doenças, especialmente em regiões com infraestrutura limitada. Desta forma, mais estudos e pesquisas nesta área podem consolidar a saliva como um fluido biológico chave para o diagnóstico não invasivo e investigar a possível transmissão do vírus através desse líquido corpóreo.

REFERÊNCIAS

1. AGHAIE A, et al. Frequência de infecção pelo vírus da dengue em doadores de sangue em Sistan e Baluchest, uma província do Irã. *Transfusão. Apher. Ciência*, 2014; 50: 59–62.
2. ARCA B, et al. Expressão gênica específica da glândula salivar no vetor da malária *Anopheles gambiae*. *Parassitologia*, 1999; 41: 483–487.

3. CASTELLANOS JE. O uso da saliva poderia melhorar o desafio do diagnóstico do zika? Contribuições de uma perspectiva proteômica. *Jornal de pesquisa odontológica*, 2017; 96(10): 1076–1077.
4. CHOWDHURY A, et al. High resolution proteomics of *Aedes aegypti* salivary glands infected with either dengue, Zika or chikungunya viruses identify new virus specific and broad antiviral factors. *Sci Rep*, 2021; 11(1): 23696.
5. CORSTJENS PL, Saliva e infecções virais. *Periodontology* 2000, 2015; 70: 93–110.
6. CUNHA LS, et al. Relação dos indicadores de desigualdade social na distribuição espacial dos casos de Zika Vírus. *Ciência & Saúde Coletiva*, 2020; 25(5).
7. DIAS IKR, et al. Zika virus: - a review of the main aspects of this type of arbovirose. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 2018; 51(03).
8. EDGAR WM. Saliva e saúde bucal. Implicações clínicas da saliva: relato de uma reunião de consenso. *Brazilian Dental Journal*, 1990; 169: 96-98.
9. HALANI S, et al. Clinical manifestations and health outcomes associated with Zika virus infections in adults: A systematic review. *PLoS Negl Trop Dis*. 2021.
10. HAYES EB. Zika virus outside Africa. *Emerging Infectious Diseases*, 2009; 15(9): 1347– 1350.
11. HUMPHREY SP e WILLIAMSON RTA. review of saliva: normal composition, flow, and function. *The Journal of prosthetic dentistry*, 2001; 85(2): 162-169.
12. JAEGER RG e FREITAS VM. Histologia das Glândulas Salivares. *Sistema Digestório: Integração Básico-Clínica*. Blucher, 2016; 227 -246.
13. KATCHBURIAN E e ARANA CHAVEZ VE. Histologia e embriologia oral: texto, atlas, correlações clínicas. Guanabara, 2012.
14. KHOJASTEH SMB e DELASHOUB M. Microscopic anatomy of the parotid and submandibular salivary glands in European hamster (*Cricetus cricetus* L.). *International Research Journal of Applied and Basic Sciences*, 2012; 3(7): 1544-1548.
15. KHURSHID Z, et al. Human saliva can be a diagnostic tool for Zika virus detection. *Journal of Infection and Public Health*, 2019; 12(5): 601-604.
16. LANDRY ML e GEORGE KST. Laboratory diagnosis of Zika virus infection. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 2017; 141: 60–67.
17. LEE YH e WONG DT. Saliva: an emerging biofluid for early detection of diseases. *Am. J. Dent*, 2009; (4): 241-8.
18. LETA S, et al. Global risk mapping for major diseases transmitted by *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. *International Journal of Infectious Diseases*, 2018; 67: 25–35.
19. LEUNG GHY, et al. Zika virus infection in Australia following a monkey bite in Indonesia. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 2015; 46: 460–464.
20. LOPES N, et al. Características gerais e epidemiologia dos arbovírus emergentes no Brasil. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, 2014; 5(3): 55-64.
21. LOYOLA S, et al. Detection of zika in oropharyngeal swabs from patients with acute febrile illness. *Am. J. Trop. Hyg*, 2022; 107(6): 1242-1244.
22. MANSUY JM, et al. Zika virus in semen and spermatozoa. *Lancet Infectious Diseases*, 2016; 16(10):1106-1107.
23. MARBÁN-CASTRO E, et al. Zika virus infection in pregnant travellers and impact on childhood neurodevelopment in the first two years of life: A prospective observational study. *Travel Med Infect Dis*, 2021; 40: 101985.
24. MARKEY JD, et al. The effect of submandibular gland preservation during level 1B neck dissection on postoperative xerostomia. *Auris Nasus Larynx*, 2017.
25. MARTINES RB et al. Pathology of congenital Zika syndrome in Brazil: a case series. *Lancet*, 2016; 388: 898- 904.
26. MARTINS MM. Zika virus in Brazil and worldwide: a narrative review. *Paediatrics and International Child Health*, 2020; 1-8.
27. MUSSO D e GUBLER DJ. Vírus Zika. *Journal Clinical Microbiology*, 2016; 29(3): 487–524.
28. MUSSO D, et al. Detecção do vírus Zika na saliva. *Journal of Clinical Virology*, 2015; 68: 53-5.
29. MUSTAFA YM, et al. Vias exploradas pelos flavivírus para neutralizar a barreira hematoencefálica e invadir o sistema nervoso central. *Frontiers in Microbiology*, 2019: 10.
30. PIERSON TC e DIAMOND MS. O surgimento do vírus Zika e suas novas síndromes clínicas. *Nature*, 2018; 560(7720): 573-581.
31. PRASAD VM et al. Structure of the immature Zika virus at 9 Å resolution. *Nature Structural and Molecular Biology*, 2017; 24(2): 84–186.

32. RABE, IB, et al. Interim guidance for interpreting Zika virus antibody test results. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 2016; 65: 543-546.
33. SAMPAIO GS, et al. Expansão da circulação do vírus Zika da África à América, 1947-2018: revisão da literatura. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 2019; 28(2).
34. SCHNEIDER BS e HIGGS S. O aumento da transmissão de arbovírus e doenças pela saliva do mosquito está associado à modulação da resposta imune do hospedeiro. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 2008; 102: 400–408.
35. SIQUEIRA WL et al. Proteome of human minor salivary gland secretion. *Journal of Dental Research*, 2008; 87: 445-450.
36. SOO-QUEE KD e CHOON-HUAT KG. The use of salivary biomarkers in occupational and environmental medicine. *Occup Environ Med*. 2007; 64(3):202-10.
37. THAM H-W, et al. Viral Determinants and Vector Competence of Zika Virus Transmission. *Frontiers in Microbiology*, 2018; 9:1040.
38. YOUNG PR. *Dengue and Zika: Control and Antiviral Treatment Strategies*. Springer Singapore, 2018; 1062.
39. ZUANAZZI D, et al. Identificação pós-natal de peptídeos do vírus Zika na saliva. *Journal of Dental Research*, 2017; 96: 1078–84.