

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**

Paula Hallak Goddi Campos

**Expressão de ECA2 e Tmprss2 nas células do epitélio oral e o papel da saliva
na pandemia da COVID-19**

**Juiz de Fora
2022**

Paula Hallak Goddi Campos

**Expressão de ECA2 e TMPRSS2 nas células do epitélio oral e o papel da saliva
na pandemia da COVID-19**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado à Faculdade de Odontologia
da Universidade Federal de Juiz de Fora,
como requisito parcial à obtenção do título
de Cirurgião-Dentista.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Machado Vilela

Juiz de Fora

2022

FICHA CATALOGRÁFICA

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Hallak Goddi Campos, Paula.

Expressão de ECA2 e TMPRSS2 nas células do epitélio oral e o papel da saliva na pandemia da COVID-19 / Paula Hallak Goddi Campos. -- 2022.

39 f.

Orientador: Eduardo Machado Vilela

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Odontologia, 2022.

1. COVID-19 . 2. Cavidade oral. 3. Saliva. 4. Enzima Conversora de Angiotensina 2. 5. TMPRSS2. I. Machado Vilela, Eduardo , orient.
II. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
REITORIA - FACODONTO - Coordenação do Curso de Odontologia

Paula Hallak Goddi Campos

**Expressão de ECA2 e Tmprss2 nas células do epitélio oral e o papel da saliva na
pandemia da COVID-19.**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado à Faculdade de Odontologia
da Universidade Federal de Juiz de Fora
como requisito parcial à obtenção do
título de Cirurgião-Dentista.

Aprovado em 31 de agosto de 2022.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Eduardo Machado Vilela - Orientador

Universidade Federal de Juiz de Fora

Profª. Drª. Aneliese Holetz de Toledo Lourenço

Universidade Federal de Juiz de Fora

Profª Drª. Ana Carolina Morais Apolônio

Universidade Federal de Juiz de Fora

Documento assinado eletronicamente por **Eduardo Machado Vilela, Professor(a)**, em 31/08/2022, às 15:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

Documento assinado eletronicamente por **Aneliese Holetz de Toledo Lourenço, Professor(a)**, em 31/08/2022, às 15:20, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

Documento assinado eletronicamente por **Ana Carolina Morais Apolonio, Professor(a)**, em 31/08/2022, às 19:13, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-Ufjf (www2.ufjf.br/SEI) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador **0911376** e o código CRC **C2558517**.

Dedico este trabalho a todas as pessoas que estiveram ao meu lado durante esse ciclo e acreditaram em mim do início ao fim. Dedico também a todos que perderam alguém querido na pandemia da COVID-19.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela oportunidade de concluir o ciclo mais incrível e desafiador da minha vida, mesmo duvidando de mim mesma em alguns dias. Agradeço também por ter sido uma de Suas escolhidas para uma profissão tão gratificante e, através dela, poder encontrar o meu propósito de vida. Também por me permitir viver tudo isso em um lugar que se tornou a minha casa e que deixo hoje um pedaço do meu coração.

Agradeço ao meu orientador, Eduardo Machado Vilela, pela paciência e preocupação comigo, por todo apoio e incentivo. Obrigada por confiar em mim durante a elaboração deste trabalho e por acrescentar tanto na minha formação na Odontologia.

Agradeço às amigas maravilhosas que a Faculdade de Odontologia me proporcionou, principalmente Ana Clara, Iany, Pillar, Rafaela e Rodrigo, por tudo que fizeram por mim desde o início. Obrigada por serem a minha família em Juiz de Fora e por nunca me deixarem passar um dia sem boas risadas, vocês são para sempre. Agradeço também às minhas amigas Carolina e Maria Eline, por trazerem tanta luz e leveza para a minha vida, vocês incentivam o melhor de mim.

À todos os meus professores, agradeço a vocês pela atenção, carinho e pelo conhecimento passado durante esses anos de curso, levarei um pouco de cada um de vocês para o resto da vida. Aos meus pacientes, obrigada pela confiança depositada em minhas mãos, vocês foram fundamentais para a minha formação profissional e humana. Agradeço também a todos os funcionários da Faculdade de Odontologia, pelos cumprimentos alegres de “bom dia” e por fazerem este local tão especial funcionar diariamente.

Agradeço também aos amores da minha vida, meus pais Moema e Luiz Paulo, que não mediram esforços para que eu concluísse esse sonho longe de casa e me apoiaram em cada decisão, vocês são a razão de tudo. À minha irmã Luiza, obrigada por ser minha amiga acima de tudo, seremos sempre nós duas. À todos os meus familiares, inclusive aos que já se foram, obrigada por me mostrarem o verdadeiro significado de família e torcerem tanto por mim, vocês foram fundamentais nesta caminhada. Em especial, agradeço à minha madrinha Mônica, minha segunda mãe, pelo apoio inigualável, e à minha tia Eneida, minha inspiração na vida acadêmica, por toda ajuda e incentivo de sempre.

CAMPOS, P. H. G. **Expressão de ECA2 e TMPRSS2 nas células do epitélio oral e o papel da saliva na pandemia da COVID-19.** Juiz de Fora (MG). Monografia (Curso de Graduação em Odontologia) - Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Juiz de Fora.

RESUMO

O presente estudo tem por objetivo revisar o papel da saliva na transmissão, monitoramento e diagnóstico da COVID-19, através da relação entre o novo coronavírus e os receptores ECA2 e TMPRSS2 encontrados na cavidade oral. Para tanto, foi realizada uma revisão da literatura, utilizando as bases de dados *Pubmed*, *Medline*, *ResearchGate* e *Wiley Online Library*, durante o período de 2003 a 2022, priorizando os artigos publicados a partir do início da pandemia (a partir de janeiro de 2020). Após a revisão da literatura, verificou-se que o SARS-CoV-2 utiliza a ECA2 e a TMPRSS2 como receptores funcionais à medida que necessita destes para ligação e clivagem da sua proteína *spike*. A expressão de ECA2 e TMPRSS2 nas células da língua, lábios, bochechas e glândulas salivares torna a cavidade oral uma porta de entrada para o novo coronavírus e possibilita sua transmissão através da saliva após a replicação viral nestas estruturas. A transmissão pode ocorrer no período pré, sintomático e pós sintomático, principalmente através de aerossóis, de maneira direta ou indireta. Por outro lado, observou-se também que a saliva possui relevância no diagnóstico e monitoramento da doença, por ser um teste confiável, com taxa de consistência semelhante aos *swabs* nasofaríngeos e com detecção viral em períodos distintos de outros métodos. Além de possibilitar a coleta pelo próprio paciente, o teste salivar não é invasivo, é acessível, menos desconfortável e mais seguro quando comparado aos outros métodos, ao reduzir a exposição dos profissionais de saúde. Por se tratar de uma realidade recente, são necessárias mais pesquisas para consolidar a relação entre a presença dos receptores no epitélio oral e a presença do novo coronavírus na saliva, principalmente no que diz respeito às variantes que sofrem mutações constantes em sua proteína *spike* e têm sua infectividade aumentada. Além disso, medidas rígidas de biossegurança devem ser aplicadas durante a prática odontológica para reduzir o risco de contágio através da saliva, devido à proximidade entre paciente e Cirurgião-Dentista.

Palavras-chave: COVID-19. SARS-CoV-2. Enzima Conversora de Angiotensina 2. Saliva. Cavidade oral. Transmissão. Diagnóstico. Variantes. TMPRSS2.

CAMPOS, P. H. G. **Expressão de ECA2 e TMPRSS2 nas células do epitélio oral e o papel da saliva na pandemia da COVID-19.** Juiz de Fora (MG). Monografia (Curso de Graduação em Odontologia) - Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Juiz de Fora.

ABSTRACT

This study aims to review the relevant role saliva plays in transmission, monitoring and diagnosis of COVID-19, through the relationship between the new coronavirus and ACE2 and TMPRSS2 receptors found in the oral cavity. The literature review was carried by accessing the following data base, from 2003 to 2022: Pubmed, Medline, ResearchGate and Wiley Online Library. The review emphasized papers published from January 2020 on (the beginning of the pandemic). The literature review allowed to verify that SARS-CoV-2 uses ACE2 and TMPRSS2 as functional receptors, since it needs both to bind and cleave its spike protein. The expression of ACE2 and TMPRSS2 in the tongue, lips, cheeks cells and salivary glands make the oral cavity a potential gateway to the new coronavirus. Also, it allows its transmission through the saliva after virus replication in those structures. Furthermore, transmission can take place in pre, symptomatic and post symptomatic period, mainly by aerosols, direct or indirectly. On the other hand, we also noticed saliva plays a relevant role with respect to diagnosis and monitoring of the disease. Saliva testing provides a reliable, consistent and similar results when compared to nasopharyngeal swabs, and also allows a viral detection in different phases of the disease unlike other methods. In addition to make possible the self saliva collection by patient, saliva testing is non-invasive, affordable, less uncomfortable and more safe in comparison to other methods, because it reduces the exposure of health professionals to the contamination. Because the pandemic is too recent it claims for more researchs aiming to consolidate the link between the presence of receptors in the oral epithelium and new coronavirus in saliva, especially regarding to variants and its constant mutation in its spike protein, increasing infectivity. In addition, severe biosecurity measures must be applied during dental practice focusing on reduce the risk of contamination through saliva, due to proximity between patient and dentist.

Keywords: COVID-19. SARS-CoV-2. Angiotensin-Converting Enzyme 2. Saliva. Oral Cavity. Transmission. Diagnosis. Variants. TMPRSS2.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|------------|--|
| COVID-19 | Doença por Coronavírus 2019 (do inglês Coronavirus Disease 2019) |
| CITV | Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus |
| ECA2 | Enzima Conversora de Angiotensina 2 |
| MERS-CoV | Coronavírus da Síndrome Respiratória do Oriente Médio (do inglês Middle East Respiratory Syndrome) |
| OMS | Organização Mundial da Saúde |
| RBD | Domínio de Ligação com o Receptor (do inglês Receptor Binding Domain) |
| RBM | Motivo de Ligação ao Receptor (do inglês Receptor Binding Motif) |
| TMPRSS2 | Serino Protease Transmembrana tipo 2 (do inglês Transmembrane Protease Serine 2) |
| SARS-CoV | Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave (do inglês Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus) |
| SARS-CoV-2 | Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave 2 (do inglês Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2) |

LISTA DE SÍMBOLOS

| | |
|---------------|-------------|
| μm | Micrômetro |
| $>$ | Maior que |
| $\%$ | Porcentagem |

SUMÁRIO

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 11 |
| 2 | PROPOSIÇÃO | 14 |
| 3 | METODOLOGIA | 15 |
| 4 | FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA | 16 |
| 4.1 | RELAÇÃO ENTRE O SARS-COV-2 E A PRESENÇA DE ECA2 E TMPRSS2 NAS CÉLULAS DO EPITÉLIO ORAL | 16 |
| 4.2 | RELAÇÃO DA SALIVA NA TRANSMISSÃO DO SARS-COV-2 | 19 |
| 4.3 | RELAÇÃO DA SALIVA NO DIAGNÓSTICO E MONITORAMENTO DA COVID-19 | 22 |
| 4.4 | RELAÇÃO ENTRE A SALIVA E AS VARIANTES DA COVID-19 | 25 |
| 5 | DISCUSSÃO | 28 |
| 6 | CONCLUSÃO | 33 |
| | REFERÊNCIAS | 34 |

1 INTRODUÇÃO

Os primeiros casos da COVID-19 (doença por coronavírus 2019, do inglês *coronavirus disease 2019*) foram relatados em dezembro de 2019, em Wuhan, província de Hubei, na China, inicialmente identificados como uma “pneumonia de causa desconhecida”, sendo os sintomas mais comuns febre, tosse seca e cansaço. Já em janeiro de 2020, cientistas chineses isolaram o novo coronavírus de pacientes infectados, posteriormente reconhecido como SARS-CoV-2 (coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2, do inglês *severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*), tendo sido o primeiro óbito pela doença confirmado em seguida (WANG, C. et al., 2020). A disseminação global e o aumento rápido nos casos da COVID-19 resultaram no decreto de pandemia do novo coronavírus pela Organização Mundial da Saúde (OMS), em fevereiro de 2020. Em um período de dois anos após o início das infecções pelo novo coronavírus, foram registrados mais de 278.000.000 de casos e 5.400.000 de mortes pela COVID-19 mundialmente (WHO, dados de dezembro de 2021).

Com a recente detecção do SARS-CoV-2, há conhecimento de sete coronavírus humanos até o momento, dentre os quais os tipos 229E, OC43, NL63 e HKU1, detectados em 1960. A infecção pelos mesmos resulta em um resfriado comum, enquanto as espécies patogênicas SARS-CoV, MERS-CoV e SARS-CoV-2, causam infecções do trato respiratório mais graves. O SARS-CoV e o MERS-CoV foram identificados no início dos anos 2000, sendo os responsáveis por duas pandemias de larga escala nas últimas duas décadas.

Dentre os quatro gêneros de coronavírus, o SARS-CoV-2 é classificado como *Betacoronavirus*, assim como o SARS-CoV e MERS-CoV, que se originaram em morcegos (MALIK, Y. A., 2020; SANTACROCE, L. et al., 2020). Ao comparar o genoma do novo coronavírus com o SARS-CoV e coronavírus de morcego, foi encontrada uma semelhança de 79,6% e 96%, respectivamente, possibilitando que o SARS-CoV-2 tenha a mesma origem (ZHOU, P. et al., 2020).

Os coronavírus apresentam uma estrutura esférica envolta por espículas em sua superfície, que conferem um aspecto de coroa (corona em latim), e possuem RNA de fita simples em seu nucleotídeo. Seu genoma é formado principalmente pelos genes codificadores da proteína *spike*, membrana, envelope e nucleocapsídeo. A proteína *spike* é a responsável pela ligação do vírus ao seu

receptor na célula, permitindo a fusão das membranas viral e celular e, posteriormente, a replicação do vírus em seu hospedeiro (MALIK, Y. A., 2020).

Segundo a OMS (2020), o novo coronavírus é transmitido, principalmente, através de gotículas de saliva ou secreções nasais quando um indivíduo infectado tosse ou espirra. Além da transmissão direta, o contágio pode ocorrer através do contato com objetos e áreas contaminadas, destacando que os coronavírus humanos podem permanecer infecciosos por até 9 dias em superfícies inanimadas (KAMPF, G et al., 2020).

Neste contexto, há uma preocupação emergente acerca do futuro da prática odontológica, considerando a quantidade de aerossóis e gotículas com fluidos biológicos gerados quando os dispositivos dentários são acionados na cavidade oral do paciente. O tamanho reduzido das partículas permite que estas permaneçam no ar durante um período suficiente para que sejam inaladas por outros indivíduos, até se instalarem em superfícies ambientais, possibilitando a infecção pela COVID-19 dentro de clínicas e hospitais (PENG, X. et al., 2020).

A pandemia da COVID-19 é considerada o maior desafio e crise global de saúde desde a Segunda Guerra Mundial, o que torna crucial a obtenção de diagnóstico rápido e preciso. Espécimes de nasofaringe e orofaringe estão sendo utilizados para testes diagnósticos da doença. No entanto, a coleta desses tipos de amostra causa desconforto para o paciente, podendo ocasionar sangramento, e apresenta risco para transmissão do vírus devido à proximidade com a equipe de saúde. Em contrapartida, a coleta de saliva não é um método invasivo e minimiza o risco de transmissão, podendo ser feita pelo próprio paciente, além de possuir uma taxa de consistência semelhante às outras amostras na detecção de vírus respiratórios (SANTOSH, T. S. et al., 2020).

Até o momento, três abordagens para coleta de saliva com fins diagnósticos para o SARS-CoV-2 foram propostas: através da tosse, espécimes de saliva e saliva coletada diretamente do ducto da glândula salivar. Estudos demonstraram que pacientes com COVID-19 eram SARS-CoV-2 positivos na saliva em ambos os casos (XU, R. et al., 2020). Além do que, é possível identificar o RNA viral em amostras de saliva orofaríngea posterior antes do início dos sintomas, durante e após sua cessação. A maior carga viral na saliva é encontrada próxima ao início dos sintomas, o que explica a rápida disseminação do vírus, diminuindo gradativamente com o curso da doença (TO, K. KW. et al., 2020).

No estudo conduzido por Zhou e colaboradores (2020), citado anteriormente, um experimento com células expressando ou não a Enzima Conversora de Angiotensina 2 (ECA2) demonstrou que o SARS-CoV-2 é capaz de utilizar a proteína como porta de entrada na célula humana quando presente, indicando que a ECA2 é provavelmente o receptor do vírus, bem como do SARS-CoV. Nesse sentido, células com expressão de ECA2 podem ser alvo de infecção pelo novo coronavírus, tornando susceptíveis diferentes órgãos como pulmão, coração, esôfago, rim, bexiga e íleo, e tipos celulares específicos localizados (ZOU, X. et al., 2020). A expressão de ECA2 em grande quantidade foi identificada em células epiteliais da mucosa oral, em maior proporção na língua em relação aos outros sítios, evidenciando o potencial de risco da cavidade oral como rota de entrada da COVID-19 (XU, H. et al., 2020). A maior expressão de ECA2 na língua localiza-se na superfície epitelial e na camada córnea, enquanto na cavidade oral é predominantemente encontrada nas células basais do epitélio escamoso estratificado não queratinizado (HAMMING, I. et al., 2020).

Além da ECA2, o SARS-CoV-2 depende também da Serino Protease Transmembrana tipo 2 (TMPRSS2) para entrar na célula, uma vez que esta é responsável pela clivagem da proteína *spike* (HOFFMAN, M. et al., 2020). Sendo assim, de acordo com Zhu et al. (2021), todos os tecidos humanos com ECA2 e TMPRSS2 são alvos potenciais de SARS-CoV-2. Isso inclui uma gama de tecidos de cabeça e pescoço expressando tais receptores, permitindo a entrada viral no organismo, como na mucosa oral, faríngea, olfatória e nasossinusal humana (CHERIAN, S. et al., 2021).

Tem-se como hipótese que a afinidade do SARS-CoV-2 com o receptor ECA2 expressando em células da língua, glândulas salivares e mucosa oral, e a presença de TMPRSS2, torna a cavidade bucal um grande reservatório do vírus, influenciando na transmissão, diagnóstico e monitoramento da COVID-19.

2 PROPOSIÇÃO

Considerando o presente cenário, em que a descoberta do novo coronavírus se transformou em uma pandemia de grandes proporções e desafios, o presente estudo tem como objetivo revisar a literatura a respeito da relação entre o SARS-CoV-2 e a expressão de Enzima Conversora de Angiotensina 2 e de Serino Protease Transmembrana tipo 2 nas células de revestimento do epitélio da mucosa oral, verificando o papel da saliva como rota de transmissão e alternativa de diagnóstico e monitoramento da COVID-19.

3 METODOLOGIA

Tratou-se de uma pesquisa bibliográfica qualitativa, na qual foram utilizadas as bases de dados *Pubmed*, *Medline*, *ResearchGate* e *Wiley Online Library*, acessadas entre março/2020 e abril/2022. O critério de inclusão abrangeu artigos acadêmicos de revisão e experimentais que foram publicados nas bases citadas entre os anos de 2003 e 2022, priorizando aqueles veiculados já durante a pandemia da COVID-19 (a partir de janeiro/2020). O recorte temporal considerou a epidemia causada pelo SARS-CoV no início dos anos 2000 devido à sua relação genética com o SARS-CoV-2 e ao receptor celular utilizado por estes vírus.

Os seguintes descritores foram utilizados: coronavírus, SARS-CoV-2 COVID-19, saliva, *diagnosis*, *Angiotensin-Converting Enzyme 2*, *TMPRSS2*, *transmission*, *oral cavity*. Durante o estudo, foram acrescentados novos artigos e a palavra-chave “*variants*” (cruzada com as palavras-chave citadas anteriormente), devido ao surgimento das cepas variantes do novo coronavírus a partir do ano de 2021.

Durante a pesquisa, realizou-se a leitura prévia dos resumos dos artigos e a seleção daqueles que correspondiam ao propósito deste trabalho. Dessa forma, de 178 artigos, foram selecionados 60 artigos. Além disso, foi realizado o acesso ao site da Organização Mundial da Saúde para coleta dos dados atualizados sobre a pandemia no mundo.

4 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

4.1 RELAÇÃO ENTRE O SARS-COV-2 E A PRESENÇA DE ECA2 E TMPRSS2 NAS CÉLULAS DO EPITÉLIO ORAL

De acordo com o Grupo de Estudo de Coronavírus do Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (CITV), os coronavírus possuem quatro gêneros, incluindo *Alphacoronavírus*, *Betacoronavírus*, *Deltacoronavírus* e *Gammacoronavírus*. Os vírus que pertencem aos gêneros *Alphacoronavírus* e *Betacoronavírus* infectam apenas mamíferos, enquanto *Deltacoronavírus* e *Gammacoronavírus* infectam pássaros em sua maioria, podendo também infectar mamíferos (WOO, P. C. Y., et al., 2012).

Até dezembro de 2019, apenas seis coronavírus humanos eram conhecidos. Destes, os vírus HCoV-NL63, HCoV-229E, HCoV-OC43 e HKU1 são conhecidos por causar sintomas leves, semelhantes a um resfriado, em imunocomprometidos, enquanto MERS-CoV e SARS-CoV foram os responsáveis por pandemias de larga escala desde o início dos anos 2000 (RABI, F. A., et al., 2020). Com a recente detecção do novo coronavírus, que posteriormente foi designado SARS-CoV-2 pelo Grupo de Estudo de Coronavírus do CITV devido a sua semelhança com o SARS-CoV, são reconhecidos atualmente sete coronavírus humanos (GORBALENYA, A. E. et al., 2020).

Zhou et al. (2020) demonstraram que a sequência genética do SARS-CoV-2 é muito semelhante à do SARS-CoV, possuindo 79,6% de compatibilidade, indicando que os vírus pertencem à mesma espécie. Além disso, o genoma do novo coronavírus apresenta semelhança de 96% com o genoma de coronavírus de morcego, sugerindo que o SARS-CoV-2 possua a mesma origem. De maneira análoga, no estudo desenvolvido por Chan et al. (2020), o genoma do novo coronavírus apresentou 89% de compatibilidade com o genoma de coronavírus de morcego, e 82% de paridade com o genoma do SARS-CoV. Além disso, ao analisar filogeneticamente as sequências de aminoácidos orf 1 a/b e dos genes estruturais do SARS-CoV-2, este foi agrupado intimamente com os *Betacoronavírus*, sendo assim classificado no mesmo gênero do SARS-CoV e MERS-CoV.

Os coronavírus são vírus envelopados e possuem RNA simples de fita positiva, cujo genoma é envolto por um capsídeo helicoidal. Existem quatro proteínas principais sendo codificadas pelo genoma dos coronavírus: a proteína do

nucleocapsídeo, que forma o capsídeo helicoidal; a proteína da membrana e a proteína do envelope, que estão relacionados à montagem do vírus; e a proteína *spike*, que medeia a entrada do vírus nas células hospedeiras, sendo as três últimas associadas ao envelope viral. A proteína *spike* forma protuberâncias na superfície do vírus, conferindo um aspecto de coroa que deu origem ao nome "coronavírus" ("coroa" em espanhol) (LI, F., 2020; MALIK, Y, 2020).

A proteína *spike* é um determinante primário do tropismo celular e da patogênese do vírus. Esta é responsável pela ligação do vírus ao seu receptor na célula hospedeira e pela fusão das membranas viral e celular (BELOUZARD et al., 2012). Três segmentos compõem a proteína *spike*, sendo eles um ectodomínio, uma âncora transmembrana de passagem única e uma cauda intracelular única. O ectodomínio possui duas subunidades S1 e S2, nas quais S1 se liga ao receptor na superfície da célula hospedeira e S2 é responsável pela fusão das membranas do hospedeiro e do vírus; o que permite a entrada do genoma nas células hospedeiras e, posteriormente, a replicação viral (LI, F., 2020). Anteriormente à fusão das membranas, a subunidade S2 é clivada por outro fator de entrada do SARS-CoV-2, uma Serino Protease Transmembrana tipo 2 (TMPRSS2) (SAWA, Y. et al., 2020).

Li et al. (2003) atestaram que o domínio S1 da proteína *spike* do SARS-CoV, que promove a ligação do vírus com seu receptor na célula hospedeira, possui alta afinidade com a Enzima Conversora de Angiotensina 2. Além disso, é possível inibir a replicação viral especificamente por um anticorpo anti-ECA2, comprovando que a ECA2 é um receptor funcional do SARS-CoV.

Assim como o SARS-CoV, o novo coronavírus também utiliza como receptor a ECA2 (ZHOU, P. et. al, 2020). Estudos sugerem o uso da ECA2 como receptor pelo SARS-CoV-2 devido à semelhança observada entre a sequência genética do seu domínio de ligação com o receptor (RBD) com a sequência encontrada no SARS-CoV (WAN, Y. et al., 2020). Tal fato indica que a maioria dos resíduos de aminoácidos essenciais usados pelo SARS-CoV para a interação do vírus com a ECA2 foi conservada no motivo de ligação ao receptor (RBM) do SARS-CoV-2. (HOFFMAN, M. et al., 2020).

Segundo Wong et al. (2021), o tropismo multiorgânico do SARS-CoV-2 já foi demonstrado para vários órgãos principais, como pulmão, traquéia, rim, coração ou fígado. No estudo realizado pelo mesmo, utilizando amostras de autópsias de casos fatais de COVID-19, o RNA viral também foi encontrado nas amígdalas, glândulas

salivares, orofaringe, tireóide, glândula adrenal, testículos, próstata, ovários, intestino delgado, linfonodos, pele e músculo esquelético, assim como o RNA replicante do SARS-CoV-2. Além disso, o RNA viral e replicante do SARS-CoV-2 foi observado em todos os sistemas de órgãos que co-localizam ECA2 e TMPRSS2, principalmente em células epiteliais, além de células mesenquimais e endoteliais.

De acordo com Sawa et al. (2020), os fatores de entrada do novo coronavírus, ECA2 e TMPRSS2 são expressos na mucosa normal do epitélio escamoso estratificado queratinizado da língua e epitélios escamosos estratificados não queratinizados de lábio e bochecha. A ECA2 é detectada no citoplasma e na membrana celular, principalmente no estrato granuloso do epitélio, enquanto a TMPRSS2 é fortemente expressa na membrana celular, notadamente no estrato granuloso e estrato espinhoso, mas não no estrato basal. Além do epitélio oral, a expressão de ECA2 e TMPRSS2 foi observada também nos ácinos mucosos e serosos das glândulas labiais, destacando que o SARS-CoV-2 pode se conectar temporariamente na mucosa oral e nas glândulas salivares menores que estão localizadas sob toda a mucosa bucal.

A expressão de ECA2 na mucosa da cavidade oral é observada em diferentes tipos celulares de tecidos orais, destacando-se em maior quantidade nas células epiteliais, seguida de células T e células B, e fibroblastos. Ao comparar os sítios da cavidade oral, a expressão de ECA2 é evidentemente maior na porção anterior da língua em relação aos tecidos bucal e gengival (XU, H. et al., 2020). Na língua, a maior expressão de ECA2 está localizada na superfície epitelial e na camada córnea, enquanto no restante da cavidade oral é predominantemente encontrada nas células basais do epitélio escamoso estratificado não queratinizado (HAMMING, I. et al., 2020). Portanto, a língua e a mucosa oral são importantes reservatórios virais, destacando o alto risco de transmissão do vírus por gotículas de saliva (VILLALOBOS, G. C. et al., 2020).

A expressão da Enzima Conversora de Angiotensina 2 detectada também nas glândulas salivares possibilita a infecção destas estruturas pelo SARS-CoV-2. No entanto, os níveis de ECA2 nas glândulas salivares se mostraram inferiores quando comparados a outros órgãos, como o sistema gastrointestinal, testículos, fígado e músculo cardíaco (CHEN, L. et al., 2020). Nas glândulas salivares menores, a expressão de ECA2 foi observada na membrana celular de componentes do ducto, incluindo ductos excretores interlobulares e ductos interlobulares. Já na glândula

submandibular, a expressão de ECA2 foi constatada na membrana celular / borda em escova dos ductos principais, ductos excretorios interlobulares e nos ductos interlobulares. Contudo, não há expressão da enzima nos ácinos mucosos e serosos (USAMI, Y. et al., 2020).

No estudo realizado por Orozco et al. (2021), foi observado que a expressão de ECA2 se dá principalmente na língua, mucosa oral, glândulas salivares e células epiteliais, enquanto a expressão do gene ou proteína TMPRSS2 foi encontrada principalmente nas glândulas salivares, língua, epitélio sulcular e mucosa oral. E também nas células das glândulas salivares (células ductais, acinares e mioepiteliais) e na língua (na camada de células basais espinhosas, na camada córnea e na superfície epitelial). Sendo assim, o SARS-CoV-2 pode infectar uma ampla variedade de tecidos e células orais, o que explica também os sintomas identificados na cavidade oral de pacientes positivos para a COVID-19.

Há que se destacar ainda que, além dos fatores de entrada ECA2 e TMPRSS2, já fora identificado como importante co-receptor do SARS-CoV-2 na célula hospedeira, a glicoproteína Neuropilina-1 (GUDOWSKA-SAWCZUK, M. e MROCZKO, B., 2021). Porém, o mesmo não faz parte do escopo deste trabalho.

4.2 RELAÇÃO DA SALIVA NA TRANSMISSÃO DO SARS-COV-2

Segundo a OMS, o novo coronavírus se espalha principalmente por meio de gotículas de saliva ou secreção nasal quando uma pessoa infectada tosse ou espirra. A transmissão da COVID-19 de pessoa a pessoa pode ocorrer de maneira direta pela inalação de partículas virais, contato com mucosas oral, nasal e ocular, através da saliva e pela via fecal-oral. E de maneira indireta, através do contato com objetos e superfícies inanimadas que estejam contaminados (WHO, 2020).

O SARS-CoV-2 também pode se espalhar por meio de gotículas e aerossóis de indivíduos infectados em clínicas e hospitais, considerando a emissão de grande quantidade de aerossóis e gotículas misturadas com a saliva ou sangue do paciente, quando os dispositivos dentários são acionados na cavidade oral do paciente. Tais gotículas são pequenas o suficiente para permanecerem no ar por um longo período antes de se estabelecerem nas superfícies ambientais ou entrarem no trato respiratório (PENG, X. et al., 2020).

A sobrevivência dos patógenos presentes nos aerossóis depende das condições ambientais, como temperatura e umidade relativa, que podem variar com

a estação do ano e o local. Esses aerossóis podem infectar outros indivíduos próximos (distância menor que 1 metro) e se deslocar por longas distâncias por fluxos de ar, movimentação de pessoas ou diferenças de temperatura. As gotículas maiores estão associadas à transmissão de curto alcance e podem se tornar pequenas gotículas e núcleos de gotículas por meio do processo de evaporação, possibilitando a transmissão do agente infeccioso a distâncias maiores (TANG, J. W. et al., 2006). Os núcleos de partículas formados por desidratação de gotículas transportadas pelo ar contendo microorganismos possuem menos de 5 micrômetros (μm) de diâmetro, podendo permanecer suspensos no ar por longos períodos de tempo (KOHN, W. G. et al., 2003).

Segundo Wang, Xu e Huang (2020), ainda que a maioria das partículas evaporadas após uma tosse sejam maiores que 5 μm , 59,5% das partículas contendo o vírus original ainda são capazes de permanecer no ar após 10 segundos; o que representa um risco de infecção para os indivíduos ao redor. O uso de máscaras pode bloquear com efetividade 94% dos vírus durante esse período de tempo.

Para Lieber et al. (2021), a vida útil das gotículas de saliva é determinada pelo diâmetro de equilíbrio após seu processo de evaporação, em função do tamanho inicial da gotícula e da umidade ambiente, sendo esse diâmetro de equilíbrio de, aproximadamente, 20% do diâmetro inicial da gotícula. Diferente das gotículas de água, as gotículas de saliva possuem uma parada repentina em seu processo de evaporação após 200 segundos, devido à presença de sais e proteínas em sua composição, mantendo seu tamanho constante por um período de tempo antes de desaparecerem. Enquanto as maiores gotículas atingem rapidamente o chão, as gotículas menores, derivadas de gotículas com diâmetro inicial inferior a 50 μm , podem permanecer suspensas no ar por mais de uma hora, aumentando o risco de disseminação de infecções respiratórias como a COVID-19. O SARS-CoV-2 permanece viável por 3 horas em aerossóis, com uma meia-vida de, aproximadamente, 1,1 a 1,2 horas (VAN DOREMALEN, N. et al, 2020).

A concentração, o tamanho e a velocidade inicial das gotículas de saliva dependem, principalmente, da própria atividade respiratória. Sendo assim, maiores concentrações e velocidade de dispersão são relatadas para tosse e espirro, em comparação com o ato de respirar ou falar (LIEBER, C. et al., 2021). Segundo Xu, R. et al. (2020), a transmissão do SARS-CoV-2 a curta distância é configurada por

gotículas maiores de saliva, aliada a fluidos respiratórios infecciosos. Desta forma, dificilmente ocorre a transmissão de aerossol de longa distância ao ar livre, devido à complicada deterioração física e biológica das partículas.

No entanto, de acordo com o experimento realizado por Loh et al. (2020), diante da preocupação acerca da dispersão de aerossóis contendo patógenos do trato respiratório de pacientes submetidos ao uso de cânula nasal de alto fluxo como dispositivo de suplementação de ar durante a pandemia da COVID-19, as gotículas geradas pela tosse podem alcançar até 4,5 metros de distância. Do mesmo modo, ao analisar as características de distribuição do aerossol do SARS-CoV-2 na UTI, Guo et al. (2020) demonstraram que a distância de transmissão do novo coronavírus pode ser de 4 metros.

Além da transmissão direta a partir da inoculação de partículas, a infecção pelo novo coronavírus também pode ocorrer pelo contato com objetos e superfícies contaminadas. O estudo conduzido por Van Doremalen et al. (2020) mostra que o SARS-CoV-2 pode permanecer viável por até 72 horas em plástico, aço inoxidável, cobre e papelão. Isto possibilita a transmissão do vírus de forma indireta pelo contato com essas superfícies, de acordo com a sua capacidade de permanecer infeccioso em função do tempo e do depósito de inóculo. Os coronavírus humanos são capazes de permanecer infecciosos por até 9 dias em superfícies inanimadas como plástico, metal e vidro, mas podem ser inativados por procedimentos de desinfecção de superfície com 62-71% etanol, peróxido de hidrogênio 0,5% ou hipoclorito de sódio 0,1% durante 1 minuto, sugerindo que o mesmo seja eficaz contra o SARS-CoV-2 (KAMPF, G. et al., 2020).

De acordo com Lee (2021), existem quatro condições fundamentais para a rápida disseminação dos vírus respiratórios, sendo estas hospedeiro assintomático, alta carga viral, estabilidade dos vírus no ar e afinidade de ligação do vírus às células humanas. As variantes de preocupação do SARS-CoV-2, *alpha* e *delta*, obedecem a esses princípios, além de obterem a carga viral necessária em fluidos respiratórios para gerar aerossóis. Isto ocorre principalmente no caso da variante *delta*, que possui alta carga viral e permite que sejam formadas nuvens de aerossóis, que infectam um grande número de pessoas em curto período de tempo em locais fechados.

A expressão dos receptores ECA2 e TMPRSS2, fatores de entrada do novo coronavírus nas células da cavidade bucal, permitem a infecção da cavidade oral e

da orofaringe, possibilitando a transmissão da COVID-19, inclusive por indivíduos assintomáticos. Esses receptores se mostraram amplamente enriquecidos em células epiteliais das glândulas e mucosas orais encontradas na saliva de pacientes infectados com SARS-CoV-2 no estudo realizado por Huang et al. (2022), estando a carga viral salivar relacionada aos sintomas orais, como perda de paladar.

4.3 RELAÇÃO DA SALIVA NO DIAGNÓSTICO E MONITORAMENTO DA COVID-19

De acordo com Yu et al. (2020), as cargas virais encontradas nas fases iniciais e progressivas da COVID-19 são significativamente maiores do que na fase de recuperação. Ao contrário da SARS, os pacientes com COVID-19 apresentam carga viral mais alta próxima à apresentação dos sintomas, o que explica a rápida disseminação da doença (TO, K. KW. et al., 2020). Estudos recentes afirmam ainda que o pico viral pode ocorrer durante e de 2 a 3 dias antes do início dos sintomas, o que possibilita que a transmissão do vírus ocorra neste período (HE, X. et al., 2020), e torna a obtenção de diagnóstico rápido e preciso imprescindível.

Atualmente, os tipos de espécimes mais comumente utilizados para testes diagnósticos da COVID-19 são esfregaços nasofaríngeos e orofaríngeos. No entanto, o novo coronavírus também pode ser detectado em fluidos corporais como saliva, lágrimas e cerúmen de pacientes sintomáticos e assintomáticos. Dentre as amostras citadas, a maior taxa de positividade é encontrada na saliva, seguida de lágrimas e cerúmen. Além disso, a carga viral é significativamente maior na saliva em relação aos outros fluidos corporais (HANEGE, F. M. et al., 2020).

A saliva é uma secreção exócrina produzida pelas glândulas salivares, que possui grande potencial como fluido diagnóstico, sendo considerada um *pool* de marcadores biológicos como alterações bioquímicas, ácidos nucleicos, proteínas e microbiota. A coleta de amostras de saliva para fins diagnósticos não é invasiva e pode ser obtida com maior facilidade, uma vez que o paciente deve apenas cuspir em um frasco estéril, minimizando a exposição de profissionais da saúde ao novo coronavírus, diferente de esfregaços nasofaríngeo e orofaríngeo. Estes tipos de espécimes exigem proximidade entre o paciente e os profissionais da saúde, aumentando o risco de transmissão do vírus, pois podem induzir tosse e espirro, que geram aerossóis potencialmente infecciosos. Além do que, causam desconforto e sangramento, principalmente em pacientes com problemas de coagulação.

Assim sendo, cabe destacar que a saliva é uma ferramenta de diagnóstico confiável e possui taxa de consistência superior a 90% em relação aos espécimes nasofaríngeos na detecção de vírus respiratórios, incluindo coronavírus, sendo ligeiramente menos sensível (SANTOSH, T. S. et al., 2020).

Entretanto, alguns estudos demonstram que a taxa de SARS-CoV-2 positivo é maior na saliva que em esfregaços orofaríngeos e nasofaríngeos, no período de uma a duas semanas a partir do diagnóstico inicial, caindo a partir de 14 dias de infecção em pacientes sintomáticos e assintomáticos em qualquer uma das amostras citadas (TEO, A. K. J. et al., 2021).

Ainda sobre a saliva, Muhammad et al. (2021) destacam que esta possui a segunda maior taxa de detecção do SARS-CoV-2 (91,7%), superada apenas pelo fluido de lavagem broncoalveolar (98,3%), enquanto os esfregaços respiratórios apresentaram taxas de detecção abaixo de 78% em suas variações. Além disso, em diversos estudos, as amostras salivares excedem os *swabs* nasofaríngeos na detecção de SARS-CoV-2, usando testes de reação em cadeia da polimerase com transcriptase reversa. Do mesmo modo, alguns testes rápidos de antígeno e de *point-of-care* (testes no ponto de atendimento, em português) também foram identificados capazes de altas taxas de detecção usando saliva, assim como anticorpos anti-SARS-CoV-2 demonstraram ser detectáveis na saliva por meio de ensaios bioquímicos (WANG, Y. et al., 2022).

No estudo realizado por Esteves et al. (2022), a saliva se apresenta como um fluido apropriado para o diagnóstico de COVID-19 em larga escala em pacientes sintomáticos e assintomáticos, pela facilidade de coleta, rapidez e menor propensão a variações quando comparadas à coleta nasofaríngea. Porém, é considerada mais desafiadora no que diz respeito ao processamento e análise. No entanto, os ensaios de reprodutibilidade das amostras salivares analisadas através de RT-PCR mostraram uma concordância quase perfeita e alta sensibilidade (96,6%), especificidade (96,8%), valor previsto positivo (96,6%) e valor previsto negativo (96,8%), em relação a amostras nasofaríngeas. Ademais, amostras de saliva têm uma carga média viral mais alta (32,6) do que amostras nasofaríngeas (28,9), embora não tenham sido observadas diferenças significativas ($p > 0,05$).

Além das vantagens evidentes como viabilidade, acessibilidade, baixo custo, possibilidade de coleta segura e sem supervisão, a saliva auto coletada não sofre influência do meio por alterações de temperatura como no verão e no inverno,

configurando-se como um novo método de diagnóstico eficaz (ALLICOCK, O.M. et al., 2022).

De acordo com Azzi et al. (2021), a saliva orofaríngea posterior deve ser diferenciada da saliva oral, uma vez que a primeira faz parte das secreções respiratórias, enquanto a saliva oral é produzida pelas glândulas salivares, que estão fora do trato respiratório. A saliva pode ser analisada por padrão (rRT-PCR) ou testes rápidos de biologia molecular (rRT-PCR direto sem extração), embora, em ambiente hospitalar, esses procedimentos possam ser realizados apenas em conjunto com *swabs* nasofaríngeos, para minimizar a incidência de resultados falso-negativos. Além disso, novos testes rápidos salivares vêm sendo descritos, a exemplo de um teste de antígeno baseado no ensaio de fluxo lateral, que detecta a presença do vírus por identificar a proteína *spike* na saliva em poucos minutos.

No estudo realizado por Park et al. (2022), foi feita a coleta diária de saliva em pacientes em isolamento comunitário em associação com o registro da sintomatologia relacionada à COVID-19, a fim de comparar o comportamento da variante *delta* com outras variantes, quanto à carga viral e à sintomatologia. O RNA genômico e subgenômico de amostras de saliva foram medidos por RT-PCR em tempo real. E culturas celulares foram realizadas em amostras de saliva com resultados de RNA genômico positivos, além da análise de RNA subgenômico de todas as amostras de saliva. Os pacientes com COVID-19 infectados com a variante *delta*, além de apresentarem sintomas com duração mais prolongada quando comparados aos pacientes infectados com variantes não *delta*, apresentaram cargas virais mais altas durante o curso tardio da infecção (dia 3 ao dia 10 após o início dos sintomas) e excreção viral viável mais prolongada do que aqueles com variante não *delta*.

Além do teste de RNA viral por RT-qPCR através da coleta de saliva, sugere-se ainda o teste ELISA para identificar potenciais biomarcadores de diagnóstico e prognóstico da COVID-19, tais como: anticorpos IgM e IgG contra o SARS-CoV-2; vesículas extracelulares de membrana dupla isoladas; proteínas de superfície anti-SARS-CoV-2; títulos de carga viral; vesículas extracelulares derivadas de células T CD4 / CD8 e citocinas pró-inflamatórias, podendo ser identificados em pacientes assintomáticos ou sintomáticos; antes, durante e após a apresentação dos sintomas (HAN, P. e IVANOVSKI, S., 2020).

Lai et al. (2022) destacam ainda a maior sensibilidade da saliva quando comparada aos *swabs* nasais de concha média para diagnóstico da COVID-19 nos primeiros dias de infecção; ou seja, no período pré sintomático, que é crítico para a transmissão involuntária, sendo fundamental para prevenção da disseminação do vírus.

De acordo com o estudo conduzido por Azzi et al. (2020), a saliva também possui grande importância no monitoramento da COVID-19, pela capacidade de detectar o vírus nas amostras, ainda que os esfregaços nasofaríngeo e orofaríngeo testem negativo para o novo coronavírus. Desta forma, evita-se que os pacientes ainda infectados recebam alta médica e continuem transmitindo o vírus.

Ainda com relação à saliva, cabe salientar que a presença de SARS-CoV-2 na mesma pode determinar o curso clínico da doença, uma vez que pode resultar da destruição das glândulas salivares pela alta carga viral em um estágio avançado da infecção, ao ser identificada em pacientes em estado crítico em ventilação mecânica, por exemplo (CHEN, L. et al, 2020).

Por outro lado, Liu et al. (2011), demonstraram que as células epiteliais dos ductos das glândulas salivares na parte superior do trato respiratório, expressando ECA2, são os primeiros alvos da infecção por SARS-CoV, além de outras células, como pneumócitos ECA2/citoqueratina positivos. O experimento em macacos *rhesus* chineses revelou que os ductos das glândulas salivares infectados pelo SARS-CoV são uma provável fonte de vírions encontrados na saliva dos pacientes, principalmente no início da infecção por SARS-CoV.

4.4 RELAÇÃO ENTRE A SALIVA E AS VARIANTES DA COVID-19

Em resposta à alteração dos perfis imunológicos da população humana diante da vacinação contra a COVID-19, iniciada no ano de 2020, o novo coronavírus vem sofrendo uma série de mutações em seu domínio de ligação ao receptor ECA2. É o que dá origem às chamadas “variantes de preocupação”, sendo a variante *delta* a mais comum.

De acordo com o estudo realizado por Yang et al. (2021), praticamente todas as mutações existentes já cobriram as mutações prejudiciais capazes de aumentar a afinidade entre o domínio de ligação ao receptor do SARS-CoV-2 com a ECA2, com exceção de uma mutação na posição do aminoácido 498 do domínio de ligação ao receptor, que ainda possui este potencial.

Até setembro de 2021, existiam quatro linhagens de SARS-CoV-2 descritas como variantes de preocupação, as quais todas apresentavam mutações no domínio de ligação ao receptor da proteína *spike*. As variantes *alpha* B.1.1.7 e B.1.1.7+E484K foram detectadas inicialmente no Reino Unido, a *beta* B.1.351 na África do Sul, enquanto a *gamma* P.1 foi encontrada no Brasil, e a *delta* B.1.617.2 na Índia.

As variantes de preocupação têm maior transmissibilidade que o SARS-CoV-2 original, potencial de aumentar a gravidade da doença, menor suscetibilidade às respostas imunes induzidas por vacinas e induzidas por infecção e, portanto, capacidade de reinfeção. Além disso, são mais resistentes a tratamentos com anticorpos monoclonais (CHOI, J.Y. e SMITH, D.M., 2021).

De acordo com Hemmer, Löbermann e Reisinger (2021), as mutações do SARS-CoV-2 podem aumentar a infecciosidade e reduzir o efeito protetor dos anticorpos após infecção, vacinação ou terapia de anticorpos. A variante *alpha* (B.1.1.7) apresentou um aumento na infectividade de 75%. No entanto, afetou ligeiramente na eficácia das vacinas disponíveis na Alemanha, enquanto a variante *beta* (B.1.351) tornou o uso terapêutico de alguns anticorpos monoclonais ineficaz. E também demonstrou resistência à vacina da AstraZeneca, na qual não apresentou quase nenhum efeito protetor. A variante *gamma* (P.1 ou B.1.1.28.1), que foi encontrada pela primeira vez no Brasil, é em média, duas vezes mais transmissível que as cepas de vírus circulantes anteriormente no país. Por sua vez, a infectividade da variante *delta* (B.1.617), dominante na maioria dos países, mostrou-se maior em vacinados que não vacinados.

O mecanismo de evolução do SARS-CoV-2 pode ser explicado pela seleção natural baseada em infectividade, sendo que as mutações ocorrem na via de transmissão, mais especificamente no domínio de ligação ao receptor ECA2, na proteína *spike*. Além disso, co-mutações disruptivas de anticorpos [Y449S, N501Y] no domínio de ligação ao receptor da proteína *spike* demonstraram-se como mecanismos de resistência às vacinas. Tal fato se configura como uma via de transmissão alternativa em populações altamente imunizadas.

As mutações nos resíduos 452 e 501 de ligação ao receptor da proteína *spike* sustentam as variantes predominantes do SARS-CoV-2 *alpha*, *beta*, *gamma*, *delta*, *epsilon*, *theta*, *kappa*, *lambda* e *mu*. Estas são fundamentais para o surgimento de variantes futuras e que podem ser aproximadamente dez vezes mais infecciosas do

que o SARS-CoV-2, original caso ocorra uma combinação entre essas co-mutações (CHEN, J., WANG, R., WEI, G.W., 2021).

O surgimento de novas cepas da COVID-19, conhecidas como “variantes de preocupação” aumentou o escape imunológico e ameaçou o controle da pandemia em diversos países. As novas variantes da linhagem B.1.617 (*kappa* e *delta*) sofreram mutações no domínio de ligação ao receptor da proteína *spike* (L452R E484Q e L452R T478K), responsável por se ligar ao receptor do hospedeiro humano, a Enzima Conversora de Angiotensina 2. Isto aumentou a afinidade e tornou mais estável a ligação entre eles e, conseqüentemente, aumentou a transmissibilidade destas cepas (KHAN, M.I. et al., 2021). Em novembro de 2020, foi identificada, em Manaus, a linhagem P.1, a variante de preocupação do SARS-CoV-2 de maior predominância no Brasil. A variante *gamma* P.1. sofreu 17 mutações, inclusive na proteína *spike* (K417T, E484K e N501Y) e na ligação com o receptor humano ECA2, possibilitando também uma maior transmissibilidade e evasão imune (FARIA, N. R. et al., 2021).

A proteína *spike* da variante *omicron*, que se liga aos receptores ECA2, contém mais mutações que as outras cepas mutantes, o que pode afetar na entrada e colonização do SARS-CoV-2 na cavidade oral e, conseqüentemente, aumentar a transmissão da *omicron* pela saliva. Esta variante, em particular, tem maior probabilidade de causar infecção do trato respiratório superior do que as outras variantes. Também apresenta mudanças significativas em sua capacidade patogênica e de escape imune, tornando necessária uma maior atenção ao diagnóstico de sintomas orofaríngeos e à transmissão em consultórios odontológicos (BIAO, R. et al., 2022).

5 DISCUSSÃO

A revisão da literatura acerca da relação entre a expressão de ECA2 e a presença de TMPRSS2 nas células da cavidade oral e a pandemia do novo coronavírus permitiu identificar que a saliva pode ser um vetor para o vírus da COVID-19, assim como uma opção de diagnóstico e monitoramento do curso da doença (AZZI, L. et al., 2020; SANTOSH, T. S. et al., 2020; VILLALOBOS, G. C. et al., 2020).

Nesse sentido, destaca-se o papel da Odontologia na prevenção e no controle da pandemia causada pelo SARS-CoV-2, uma vez que o Cirurgião-Dentista trabalha em proximidade com os pacientes nos consultórios odontológicos, estando exposto à saliva, sangue e outros fluídos biológicos que podem conter o vírus. Sem falar nas gotículas e aerossóis emitidos constantemente ao serem acionados motores de alta rotação, aparelhos de ultrassom e seringa tríplice, por exemplo (PENG, X. et al., 2020).

É fato que a presença dos fatores de entrada Enzima Conversora de Angiotensina 2 e Serino Protease Transmembrana tipo 2 na cavidade oral a tornam um alvo potencial para o SARS-CoV-2, devido à sua relação com a proteína *spike* encontrada na estrutura dos coronavírus. Esta teve sua importância no tropismo celular e na patogênese do vírus explicitada por diversos estudiosos, como Belouzard et al. (2012) e Malik (2020), sendo responsável por mediar a sua entrada na célula para posterior replicação viral.

A proteína *spike* se relaciona com os fatores de entrada virais através de seu ectodomínio, de tal forma em que a subunidade S1 é atribuída à ligação ao receptor na superfície da célula hospedeira, possuindo alta afinidade com a ECA2 (LI, W. et al., 2003; LI, F. et al., 2020). Já a subunidade S2 se encarrega da fusão das membranas do hospedeiro e do vírus. No entanto, anteriormente à fusão das membranas a subunidade S2 deve ser clivada, função esta desempenhada pela TMPRSS2 (SAWA, Y. et al., 2020; HOFFMAN, M. et al., 2020).

Desta forma, órgãos e estruturas que co-localizam ECA2 e TMPRSS2 possibilitam a interação entre vírus e célula e se tornam porta de entrada no organismo. Como consolidado no estudo realizado por Wong et al. (2021), os RNAs viral e replicante do SARS-CoV-2 foram encontrados em todos os sistemas de

órgãos expressando os dois receptores. Este fato demonstra o tropismo multiorgânico do vírus.

Já na cavidade oral especificamente, a expressão de ECA2 e TMPRSS2 é observada em estruturas como língua, mucosas bucal e jugal e glândulas salivares, o que a torna um reservatório para o vírus; assim constatado nos estudos de Sawa et al. (2020), Xu, H. et al. (2020), Orozco et al. (2021) e Villalobos et al. (2021).

Em relação aos tecidos anteriormente citados, diversos tipos celulares podem expressar os fatores de entrada, nos quais se destacam as células epiteliais (XU, H. et al., 2020; HUANG, N. et al., 2022). Porém, nos estudos observados, existem divergências quanto a localização de ECA2 e TMPRSS2 nas camadas celulares, de acordo com as variantes: tecido observado (língua, lábios, bochechas, glândulas salivares maiores e menores), porção do mesmo (anterior e posterior) e estruturas anexas (ácinos e ductos).

Uma vez que este mecanismo permite a infecção de uma ampla variedade de tecidos orais pelo SARS-CoV-2, é possível que o mesmo seja transmitido através de gotículas de saliva por pacientes sintomáticos ou não. Fato este atestado por Huang et al. (2022) ao demonstrar que os receptores ligados ao vírus se mostraram amplamente enriquecidos em células epiteliais das glândulas e mucosas orais encontradas na saliva de pacientes infectados. Neste sentido, existe um risco iminente de transmissão direta do novo coronavírus por meio de gotículas provenientes deste fluido biológico, ou indireta, pelo contato com superfícies contaminadas (VAN DOREMALEN, N., et al, 2020).

Com relação à prática odontológica no período de pandemia da COVID-19, a maior preocupação se concentra em torno dos aerossóis gerados através dos dispositivos dentários. Isto ocorre devido ao tamanho reduzido destas gotículas, que permanecem suspensas no ar durante um período de tempo que permite a inalação por indivíduos próximos e, logo, a infecção, se as partículas virais estiverem viáveis, como demonstrado por Kohn et al. (2006), Van Doremalen et al. (2020), Peng et al. (2020) e Wang, Xu e Huang (2020).

Além disso, ainda que Xu, H. et al. (2020) afirmem que as gotículas de aerossóis sofrem complicada deterioração física e biológica, Guo et al. (2020), Loh et al. (2020) e Tang et al. (2021), defendem que as mesmas podem ser deslocadas a grandes distâncias e ainda transmitirem o SARS-CoV-2. Este fato sugere que a

infecção dentro de clínicas e hospitais pode ocorrer além da sala em que está sendo realizado o procedimento odontológico.

Após o período de suspensão das partículas no ar, estas se estabelecem nas superfícies ambientais. Isto possibilita que o contágio indireto ocorra, através do contato com objetos e superfícies contaminadas por gotículas contendo o vírus e posterior contato com mucosas orais, nasais ou oculares (WHO, 2020; PENG, X. et al., 2020).

As partículas virais contidas nas gotículas de saliva podem permanecer infecciosas por um período de três a nove dias em determinados tipos de superfície, como constatado nos estudos realizados por Van Doremalen et al. (2020) e Kampf et al. (2020). Portanto, medidas rígidas de biossegurança são fundamentais para que seja reduzido o risco de infecções nos consultórios odontológicos, como uso correto de Equipamentos de Proteção Individual e desinfecção constante de superfícies e objetos contidos em sua totalidade.

Por outro lado, a saliva se mostrou uma aliada no combate à pandemia por ser um método seguro para se obter diagnóstico da COVID-19, uma vez que não apresenta risco de transmissão durante a coleta, ao diminuir a exposição dos profissionais da saúde, quando coletado pelo próprio paciente, e evitar estímulos de tosse e espirro que possam gerar aerossóis infecciosos (SANTOSH, T. S. et al., 2020). Além de ser não invasivo, por não causar sangramento e desconforto, e acessível, pode ser recolhida pelo próprio paciente, tem baixo custo, e é confiável, apresentando taxa de consistência semelhante à de amostras nasofaríngeas (SANTOSH, T. S. et al., 2020; ESTEVES, E. et al., 2022).

Apesar de Santosh et al. (2020) defenderem que a saliva é ligeiramente menos sensível para detecção de vírus respiratórios quando comparados aos espécimes nasofaríngeos, a maioria dos estudos apontou que a saliva é um método mais eficaz na detecção do vírus, obtendo maior sensibilidade e identificando maior carga viral, principalmente no período pré-sintomático e no início da infecção, onde há maior taxa de transmissão do novo coronavírus. É o que destacaram Teo et al. (2021), Muhammad et al. (2021), Lai et al. (2022) e Esteves et al. (2022).

Dentre os tipos de amostras salivares (esfregaços orofaríngeos, espécimes de saliva, saliva coletada através da tosse e saliva coletada diretamente do ducto da glândula salivar) destaca-se o espécime salivar (MUHAMMAD, A. et al., 2021; TEO, A. K. J. et al., 2021; ALLICOCK, O.M. et al., 2022).

Para a coleta e análise correta do teste salivar, é imprescindível que a saliva orofaríngea posterior seja diferenciada da saliva oral, para que não sejam cruzadas as secreções provenientes do trato respiratório com aquela produzida pelas glândulas salivares, tal como enfatizam Azzi et al. (2021).

Há que se destacar que a saliva tem papel importante ainda no monitoramento da COVID-19, pois permite a identificação do vírus ainda que os esfregaços nasofaríngeos e orofaríngeos testem negativo (AZZI, L. et al., 2020). Além disso, é possível determinar o curso clínico e gravidade da doença pelo acometimento das glândulas salivares, apesar de serem necessárias mais pesquisas para consolidar este fundamento. Tal como preconizam Liu et al. (2011), as glândulas salivares são os primeiros alvos de infecção para coronavírus, tornando-se fonte de vírions na saliva; enquanto Chen et al. (2020) afirmam que as glândulas salivares são destruídas pela alta carga viral em pacientes em estágio avançado da infecção.

Contudo, alguns pesquisadores como Azzi et al. (2021) sugerem que o teste salivar seja feito em conjunto com o teste nasofaríngeo para minimizar a ocorrência de falso-negativos, pois este ainda é o método diagnóstico mais utilizado.

Não obstante, recentemente foram descobertas variantes do SARS-CoV-2 resultantes da mutação nas porções da proteína *spike* que interagem com o receptor ECA2. Dentre estas, as mais comuns neste estudo foram as variantes *alpha*, *beta*, *delta*, *gamma* e *omicron*, denominadas “variantes de preocupação” (CHOI, J.Y. e SMITH, D.M., 2021; BIAO, R. et al. 2022).

Devido ao aumento na afinidade e estabilidade entre o vírus e receptor nas células hospedeiras pela mutação, estas variantes apresentam maior transmissibilidade e infectividade que o SARS-CoV-2 original. Além disso, dificultam a resposta imune contra vacinas e anticorpos monoclonais, favorecendo a evasão imune, conforme observado por Hemmer, Löbermann e Reisinger (2021), Choi e Smith (2021), Khan et al. (2021) e Faria et al. (2021).

A variante *gamma p.1*, sobretudo, merece destaque, pois além de ter sido descoberta no Brasil, era predominante no país e possuía uma taxa de transmissão acima da maioria das outras cepas circulantes. Isto ocorre devido à grande quantidade de mutações encontradas em sua proteína *spike*, de acordo com os autores anteriormente citados, Hemmer, Löbermann e Reisinger (2021) e Faria et al. (2021).

Quanto à entrada e colonização do SARS-CoV-2 na cavidade oral e consequente transmissão através da saliva, sobressai a variante *omicron*. Isto ocorre pela maior probabilidade de causar infecção do trato respiratório superior do que as outras variantes, devido à maior quantidade de mutações em sua proteína spike quando comparada ao restante das cepas, como constatado por Biao et al. (2022). Entretanto, as variantes *alpha* e *delta* foram destacadas por Lee (2021) por possuírem a carga viral necessária em fluídos para gerar aerossóis potenciais para infecção.

Por fim, no que diz respeito ao diagnóstico salivar, sugere-se que a excreção viral viável de pacientes infectados pelas variantes do novo coronavírus seja mais prolongada do que em pacientes infectados pelo SARS-CoV-2 original. É o que evidenciam Park et al. (2022) ao comparar a saliva coletada de pacientes infectados pela variante *delta* e pacientes não *delta*. Porém, mais estudos são necessários para consolidar as teorias relacionadas à influência das variantes na transmissão e no diagnóstico da COVID-19.

6 CONCLUSÃO

Pelo presente estudo foi possível concluir que:

- A presença dos fatores de entrada ECA2 e TMPRSS2 nas células do epitélio oral permite a entrada do novo coronavírus pela cavidade oral, seguida da replicação viral nas células hospedeiras da língua, lábios, bochecha e glândulas salivares.
- A partir do momento em que o SARS-CoV-2 se aloja nas células da cavidade oral, a transmissão pela saliva é viável em pacientes assintomáticos e no período pré, sintomático e pós sintomático, principalmente através de aerossóis.
- Ainda que o *swab* nasal seja o método mais utilizado globalmente, o teste salivar deve ser valorizado ao se tratar de um método diagnóstico altamente eficaz e confiável, com taxa de consistência semelhante e detecção do vírus em períodos distintos dos outros métodos, podendo monitorar o curso da doença.

Por se tratar de uma realidade recente, são necessárias mais pesquisas para consolidar a relação entre a presença dos receptores no epitélio oral e a presença do novo coronavírus na saliva, principalmente no que diz respeito às variantes que sofrem mutações constantes em sua proteína *spike*. Além disso, medidas rígidas de biossegurança devem ser aplicadas durante a prática odontológica devido ao alto risco de contágio pela saliva, devido à proximidade entre paciente e Cirurgião-Dentista.

REFERÊNCIAS

- ALLICOCK, O.M. et. al. Evaluation of saliva self-collection devices for SARS-CoV-2 diagnostics. **BMC Infectious Diseases**. 2022, 22:284.
- AZZI, L. et. al. Diagnostic Salivary Tests for SARS-CoV-2. **Journal of Dental Research**. 2021, Vol. 100(2) 115–123
- AZZI, L. et. al. Saliva is a reliable tool to detect SARS-CoV-2. **Journal of Infection**. v. 81, p. 45-50. Apr., 2020.
- BELOUZARD, S. et. al. Mechanisms of Coronavirus Cell Entry Mediated by the Viral Spike Protein. **Viruses**. v. 4, p. 1011-1033. Jun, 2012.
- BIAO, R. et al. Omicron Variant of SARS-CoV-2 and Its Potential Impact on Dental Practice. **J. Sichuan. Univ. (Med Sci)**. v. 53 (2). p. 175 – 180. Available at: doi: 10.12182/20220360101, 2022.
- CHAN, J. F-W. et. al. Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan. **Emerging Microbes & Infections**. v. 9., p. 221-236. 2020.
- CHEN, J., WANG R., WEI, G.W. Review of the mechanisms of SARS-CoV-2 evolution and transmission. ArXiv [Preprint]. 2021 Sep 15:arXiv:2109.08148v1. PMID: 34545334; PMCID: PMC8452100.
- CHEN, L. et. al. Detection of 2019-nCoV in Saliva and Characterization of Oral Symptoms in COVID-19 Patients., Available at SSRN: <https://ssrn.com/abstract=3557140> or <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.3557140>. Mar. 14, 2020.
- CHERIAN, S. et. al. SARS-CoV-2 Spike Mutations, L452R, T478K, E484Q and P681R, in the Second Wave of COVID-19 in Maharashtra, India. *Microorganisms* . v. 9. p.1542. Available at: <https://doi.org/10.3390/microorganisms9071542>, 2021.
- CHOI, J.Y., SMITH, D.M. SARS-CoV-2 Variants of Concern. **Yonsei. Med. J.** v. 62(11): p. 961-968. Nov. 2021.
- ESTEVEZ, E. et. al. Population wide testing pooling strategy for SARS-CoV-2 detection using saliva. **PLOS ONE**. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0263033>. Jan. 28, 2022.
- FARIA, N. R. et. al. Genomics and epidemiology of a novel SARS-CoV-2 lineage in Manaus, Brazil. Preprint doi: <https://doi.org/10.1101/2021.02.26.21252554>; version posted on March 3, 2021.
- GORBALENYA, A. E. et. al. Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: The species and its viruses – a statement of the Coronavirus Study Group. Available at: <https://doi.org/10.1101/2020.02.07.937862>. Feb. 11, 2020.
- GUDOWSKA-SAWCZUK, M.; MROCZKO, B. The Role of Neuropilin-1 (NRP-1) in SARS-CoV-2 Infection: **Review. J. Clin. Med.** v. 10, p. 2772. 2021. Available at: <https://doi.org/10.3390/jcm10132772>
- GUO, Z. et. al. Aerosol and Surface Distribution of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 in Hospital Wards, Wuhan, China, 2020. **Emerging Infectious Diseases**., v. 26. n°. 7. July, 2020.
- HAMMING, I. et. al. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. *J. Pathol.*, v. 203, p. 631-637. Mar. 2004.
- HAN, P.; IVANOVSKI, S. Saliva - Friend and Foe in the COVID-19 Outbreak. **Diagnosics**., v. 10, p. 290. May, 2020.
- HANEGE, F. M. et. al. SARS-CoV-2 presence in the saliva, tears and cerumen of COVID-19 patients. Available at: <http://dx.doi.org/10.1002/lary.29218>., May, 2021.

- HE, X. et. al. Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. **Nature Medicine.**, v. 26, p. 672–675. May, 2020.
- HEMMER, C.J., LÖBERMANN, M., REISINGER, E. C. COVID-19: Epidemiologie und Mutationen: Ein Update [COVID-19: epidemiology and mutations : An update]. **Radiologe.** 2021;61(10):880-887.
- HOFFMANN, M. et. al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. **Cell Elsevier Inc.**, v. 181, p. 271-280, April 16, 2020.
- HUANG, N. et. al. SARS-CoV-2 infection of the oral cavity and saliva. **Nat Med.** Author manuscript; available in PMC. June 29, 2021.
- KAMPF, G. et. al. Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents. **Journal of Hospital Infection.**, v. 104, p. 246-251. 2020.
- KHAN, M.I. et. al. Impact of the Double Mutants on Spike Protein of SARS-CoV-2 B.1.617 Lineage on the Human ACE2 Receptor Binding: A Structural Insight. **Viruses.** 13, 2295. 2021.
- KOHN, W. G. et. al. Guidelines for Infection Control in Dental Health-Care Settings — 2003. **Centers for Disease Control and Prevention: Morbidity and Mortality Weekly Report.**, v. 52. n°. RR-17. December 19, 2003.
- LAI, J. et. al. Comparison of Saliva and Midturbinate Swabs for Detection of SARS-CoV-2. **Microbiology Spectrum.** v. 10. ed. 1. Feb., 2022.
- LEE, B.U. Why Does the SARS-CoV-2 Delta VOC Spread So Rapidly? Universal Conditions for the Rapid Spread of Respiratory Viruses, Minimum Viral Loads for Viral Aerosol Generation, Effects of Vaccination on Viral Aerosol Generation, and Viral Aerosol Clouds. **Int. J. Environ. Res. Public Health.** Sep. 2021, 18, 9804.
- LI, F. Structure, Function, and Evolution of Coronavirus Spike Proteins. **Annu Rev. Virol.**, v. 3(1), p. 237-261. September 29, 2016.
- LI, W. et. al. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. **Nature.**, v. 426. Nov. 27, 2003.
- LIEBER, C. et. al. Insights into the evaporation characteristics of saliva droplets and aerosols: Levitation experiments and numerical modeling. **Journal of Aerosol Science.**, v. 154. Jan., 2021.
- LIU, L. Epithelial Cells Lining Salivary Gland Ducts Are Early Target Cells of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Infection in the Upper Respiratory Tracts of Rhesus Macaques. **Journal of Virology.**, v. 85, n°. 8, p. 4025-4030. Apr., 2011.
- LOH, N-H. W. et. al. The impact of high-flow nasal cannula (HFNC) on coughing distance: implications on its use during the novel coronavirus disease outbreak. **Can. J. Anesth.** Mar., 2020.
- MALIK, Y. A. Properties of Coronavirus and SARS-CoV-2. **Malaysian J. Pathol.** v. 42(1), p. 3-11. Apr., 2020.
- MUHAMMAD, A. et. al. Detection of SARS-CoV-2 using real-time polymerase chain reaction in different clinical specimens: A critical review. **Allergol Immunopathol. (Madr).**, v. 49(1), p. 159-164. 2021.
- OROZCO, M.F.S. et. al. Presence of SARS-CoV-2 and Its Entry Factors in Oral Tissues and Cells: A Systematic Review. **Medicina.** 2021, 57, 523
- PARK, S. Clinical and virological characteristics of SARS-CoV-2 B.1.617.2 (Delta) variant: a prospective cohort study. Available at: <https://academic.oup.com/cid/advance-article/doi/10.1093/cid/ciac239/6562005>. April 2022

- PENG, X. et. al. Transmission routes of 2019-nCoV and controls in dental practice. **International Journal of Oral Science.**, v. 12:9. Feb., 2020.
- RABI, F. A. et. al. SARS-CoV-2 and Coronavirus Disease 2019: What We Know So Far. **Pathogens.**, v.9, 231. Mar., 2020.
- SANTACROCE, L. et. al. The Human Coronaviruses (HCoVs) and the Molecular Mechanisms of SARS-CoV-2 Infection. Available at: <https://doi.org/10.20944/preprints202010.0041.v1>. Oct., 2020.
- SANTOSH, T. S. A Review of Salivary Diagnostics and Its Potential Implication in Detection of Covid-19. **Cureus.**, v. 12(4): e7708. Apr. 17, 2020.
- SAWA, Y. et. al. Expression of SARS-CoV-2 entry factors in human oral tissue. **Journal of Anatomy.**, v. 238, p. 1341-1354. 2021.
- TANG, J.W. et. al. Factors involved in the aerosol transmission of infection and control of ventilation in healthcare premises. **Journal of Hospital Infection.**, v. 64, p. 100-114. Aug., 2006.
- TEO, A. K. J. et. al. Saliva is more sensitive than nasopharyngeal or nasal swabs for diagnosis of asymptomatic and mild COVID-19 infection. **Scientific Reports.** v. 11:3134. 2021.
- TO, K. K-W, et. al. Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study. Available at: www.thelancet.com/infection., v. 20. May, 2020.
- USAMI, Y. et. al. Brief communication: Immunohistochemical detection of ACE2 in human salivary gland. **Oral Sci. Int.**, v. 00, p. 1-4. Aug., 2020.
- VAN DOREMALEN, N. et. al. Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. **N. Engl. J. Med.** Mar. 17, 2020.
- VILLALOBOS, G. C.; BARRERA G., F.; FUENZALIDA, L. F. SARS-CoV-2 en atención odontológica: vías de transmisión y sus consideraciones en la práctica clínica. **Rev. Med. Chile.**, v. 148, p. 1302-1306. 2020.
- XU, H. et. al. High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa. **International Journal of Oral Science.**, v. 12:8. Feb., 2020.
- XU, R. et. al. Saliva: potential diagnostic value and transmission of 2019- nCoV. **International Journal of Oral Science.**, v. 12:11. Apr., 2020.
- WAN, Y. et. al. Receptor Recognition by the Novel Coronavirus from Wuhan: an Analysis Based on Decade-Long Structural Studies of SARS Coronavirus. **Journal of Virology.**, v. 94, n°. 7. e00127-20. Apr., 2020.
- WANG, C. et. al. A novel coronavirus outbreak of global health concern. Available at: www.thelancet.com. v. 395, p. 470-473. Feb. 15, 2020.
- WANG, Y.; XU, G.; HUANG Y-W. Modeling the load of SARS-CoV-2 virus in human expelled particles during coughing and speaking. **PLOS ONE.**, v. 15(10): e0241539. Oct., 2020.
- WANG, Y. et. al. Saliva as a diagnostic specimen for SARS-CoV-2 detection: a scoping review. **Oral Dis.** 2022 Apr. 21.
- WHO. Coronavirus Disease (COVID-19). Available at: https://www.who.int/health-topics/coronavirus#tab=tab_1.
- WHO. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard. Available at: <https://covid19.who.int>.
- WONG, D.W.L. et. al. Multisystemic Cellular Tropism of SARS-CoV-2 in Autopsies of COVID-19 Patients. **Cells.** July, 2021, 10, 1900.
- WOO, P. C. Y. et. al. Discovery of Seven Novel Mammalian and Avian Coronaviruses in the Genus Deltacoronavirus Supports Bat Coronaviruses as the Gene Source of

Alphacoronavirus and Betacoronavirus and Avian Coronaviruses as the Gene Source of Gammacoronavirus and Deltacoronavirus. **Journal of Virology**, p. 3995-4008. Jan., 2012.

YANG, L. SARS-CoV-2 Variants, RBD Mutations, Binding Affinity, and Antibody Escape. **Int. J. Mol. Sci.** 2021, 22, 12114.

YU, F. et. al. Quantitative Detection and Viral Load Analysis of SARS-CoV-2 in Infected Patients. **Clinical Infectious Diseases: Viral Load Analysis of COVID-19**, v. 71, p. 793 - 798. Aug. 1, 2020.

ZHOU, P. et. al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. **Nature**, v. 579, p. 270-273. Mar. 12, 2020.

ZHU, F. et. al. ACE2 and TMPRSS2 in human saliva can adsorb to the oral mucosal epithelium. **Journal of Anatomy**. 2021;00:1–12.

ZOU, X. et. al. Single-cell RNA-seq data analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different human organs vulnerable to 2019-nCoV infection. **Front. Med.**, v. 14(2), p. 185-192. Feb., 2020.