

Investigação de biomarcadores da saliva de neonatos: Suas possíveis previsões e métodos para avaliação da saúde neonatal

Investigation of biomarkers in neonatal saliva: Their possible prediction and methods for assessing neonatal health

Investigación de biomarcadores de la saliva de neonatos: Sus posibles predicciones y métodos para evaluar la salud neonatal

Recebido: 22/12/2025 | Revisado: 28/12/2025 | Aceitado: 29/12/2025 | Publicado: 29/12/2025

Jamile Kisner Lacerda da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-7510-3261>
Universidade Franciscana, Brasil
E-mail: jamilekisner@gmail.com

Matheus Dellameá Baldissera

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3280-8528>
Universidade Franciscana, Brasil
E-mail: matheus.dellamea@ufn.edu.br

Juliana Fleck

ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-1434-4843>
Universidade Franciscana, Brasil
E-mail: jfleck@ufn.edu.br

Diulie Valente de Souza

ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-8453-9210>
Universidade Franciscana, Brasil
E-mail: diulie.valente@ufn.edu.br

Raquel Tusi Tamiosso

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3137-4393>
Universidade Franciscana, Brasil
E-mail: raquel.tamiosso@ufn.edu.br

Resumo

A saliva humana é um biofluído exócrino composto por 99,5% de água e biomoléculas, sendo reconhecida como o "espelho da saúde do corpo". Por anos, a literatura científica tem documentado o potencial dos biomarcadores salivares na triagem diagnóstica, monitoramento, prognóstico e previsão de doenças, destacando sua estabilidade e a viabilidade de coletas recorrentes, especialmente em neonatos. Apesar desse potencial, a saliva não é rotineiramente utilizada como amostra na triagem neonatal. Assim, esta pesquisa objetiva investigar os biomarcadores presentes na saliva de neonatos, aplicações preditivas e métodos para avaliação da saúde neonatal. Utilizando uma abordagem qualitativa e exploratória, foi realizada uma revisão integrativa de literatura nas bases de dados: Catálogo de Dissertações e Teses da CAPES, Portal de Periódicos CAPES, PubMed e SCOPUS, com os descritores em português e inglês: "Biomarcadores" AND "saliva"; "biomarcadores" AND "saliva" AND "neonatos." Os critérios de inclusão abrangeram estudos dos últimos cinco anos, disponíveis online com acesso gratuito; estudos que utilizaram saliva como amostra; e estudos realizados com neonatos. Vinte e um estudos atenderam aos critérios de inclusão e foram analisados integralmente para identificação dos biomarcadores salivares. Os biomarcadores identificados foram classificados em quatro categorias: Expressão gênica de genes específicos; Citocinas; Hormônios; e outras proteínas. A implementação clínica desses biomarcadores está condicionada a três desafios principais: necessidade de validação comparativa entre saliva e sangue, aceitação por profissionais de saúde e padronização de protocolos na comunidade médica. Apesar dessas limitações, as evidências apresentadas nas pesquisas sugerem que os biomarcadores salivares apresentam potencial para revolucionar o monitoramento neonatal.

Palavras-chave: Marcador clínico; Diagnóstico precoce; Recém-nascidos; Triagem neonatal.

Abstract

Human saliva is an exocrine biofluid composed of 99.5% water and biomolecules, earning it the designation of "mirror of health and body." For years, scientific literature has documented the potential of salivary biomarkers in diagnostic screening, disease monitoring, prognosis, and prediction, highlighting their stability and the feasibility of repeated sampling, especially in newborns. Despite this potential, saliva is not routinely employed as a specimen for

neonatal screening. Thus, this research aims to investigate biomarkers in neonatal saliva, their predictive applications, and methods for assessing neonatal health. Using a qualitative approach and exploratory objective, an integrative literature review was conducted across databases including the CAPES Dissertation and Thesis Catalog, CAPES Journals Portal, PubMed, and SCOPUS, employing the descriptors in Portuguese and English: "Biomarcadores" AND "saliva"; "biomarcadores" AND "saliva" AND "neonatos." Inclusion criteria encompassed studies from the past five years, available online with free access; studies utilizing saliva as a biological specimen; and studies conducted with neonates. Twenty-one studies met the inclusion criteria and all studies were thoroughly reviewed to identify salivary biomarkers. The identified biomarkers were classified into four categories: Gene expression of specific genes; Cytokines; Hormones; and other proteins. Clinical implementation of these biomarkers is contingent upon three key challenges: the need for comparative validation between saliva and blood, acceptance by healthcare professionals, and standardization of protocols within the medical community. Despite these limitations, the evidence presented in the analyzed studies suggests that salivary biomarkers hold considerable promise for revolutionizing neonatal monitoring.

Keywords: Clinical marker; Early diagnosis; Newborns; Neonatal screening.

Resumen

La saliva humana es un biofluído exocrino compuesto por 99,5 % de agua y biomoléculas, reconocida como el "espejo de la salud del cuerpo". Durante años, la literatura científica ha documentado el potencial de los biomarcadores salivales en el cribado diagnóstico, la monitorización, el pronóstico y la predicción de enfermedades, destacando su estabilidad y la viabilidad de las recolecciones recurrentes, especialmente en neonatos. A pesar de este potencial, la saliva no se utiliza rutinariamente como muestra en el cribado neonatal. Así, esta investigación tiene como objetivo investigar los biomarcadores presentes en la saliva de neonatos, aplicaciones predictivas y los métodos para evaluar la salud neonatal. Mediante un enfoque cualitativo y exploratorio, se realizó una revisión de literatura integradora en las siguientes bases de datos: Catálogo de Tesis y Disertaciones de CAPES, Portal de Revistas de CAPES, PubMed y SCOPUS, con los descriptores en portugués e inglés: "Biomarkers" AND "saliva"; "biomarkers" AND "saliva" AND "neonates". Los criterios de inclusión incluyeron estudios de los últimos cinco años, disponibles en línea con acceso gratuito; estudios que utilizaron saliva como muestra; y estudios realizados con neonatos. Veintiuno estudios cumplieron los criterios de inclusión y se analizaron plenamente para identificar biomarcadores salivales. Los biomarcadores identificados se clasificaron en cuatro categorías: Expresión génica de genes específicos; Citocinas; Hormonas; y otras proteínas. La implementación clínica de estos biomarcadores está condicionada por tres desafíos principales: la necesidad de validación comparativa entre saliva y sangre, la aceptación por parte de los profesionales de la salud y la estandarización de protocolos en la comunidad médica. A pesar de estas limitaciones, las evidencias presentadas en las investigaciones sugieren que los biomarcadores salivales tienen el potencial de revolucionar el monitoreo neonatal.

Palabras clave: Marcador clínico; Diagnóstico precoz; Recién nacidos; Tamizaje Neonatal.

1. Introdução

A saliva humana é um biofluído exócrino (Khurshid et al., 2019) composto por 99,5% de água (Ergünol et al., 2024) e diversas biomoléculas, tais como: proteínas (Swetha; Balijapalli & Feng, 2022), citocinas (Diesch et al., 2021), metabolônias (Naseem et al., 2024), hormônios (Al Habobe et al, 2024), microrganismos (Khurshid et al., 2019), entre outros componentes que atuam como indicadores da saúde (Janakiraman; Sha & Mani, 2025). É formada como resultado da filtração do sangue nas glândulas salivares (Madera e Suárez, 2017), justificando seu título de “espelho da saúde e do corpo” (Khurshid et al., 2019).

Nesse contexto, biomoléculas objetivamente mensuráveis presentes na saliva podem ser empregados como biomarcadores (Zamora-Obando et al., 2022). Biomarcadores são substâncias mensuráveis (como proteínas, carboidratos, hormônios e ácidos graxos, entre outros) capazes de indicar um estado de saúde, patologia, resposta farmacológica ou intervenção terapêutica específica de um organismo. Um biomarcador ideal é aquele associado exclusivamente a uma doença e que se diferencia de outros estados fisiológicos do corpo humano (Zamora-Obando et al., 2022; Janakiraman; Sha & Mani, 2025).

Há anos, a literatura científica tem retratado o potencial dos biomarcadores salivares na triagem diagnóstica, monitoramento, prognóstico e previsão de doenças, destacando sua estabilidade e a possibilidade de coletas recorrentes. Algumas vantagens do uso de biomarcadores na saliva incluem o risco mínimo de lesão vascular ou infecção, a coleta indolor, a possibilidade de coletas repetidas (Ergünol et al., 2024) e a disponibilidade em grandes volumes (Swetha; Balijapalli & Feng,

2022).

Apesar do seu potencial, a saliva não é utilizada, por exemplo, como amostra na triagem neonatal. A triagem neonatal serve para identificar os recém-nascidos (RN) com risco de desenvolvimento de determinada doença ou anormalidade, de forma a promover ações preventivas ou terapêuticas oportunizadas pelo diagnóstico precoce (Triagem neonatal biológica: manual técnico, 2016). O Sistema Único de Saúde (SUS) oferta cerca de cinco testes: teste da linguinha (Brasil, 2014), teste do coraçãozinho, teste do olhinho, teste do pezinho e teste da orelhinha (triagem auditiva) (Dias; Tomasi & Boing, 2024) conforme o Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN). Dentre essas triagens obrigatórias no Brasil, nenhuma faz uso da amostra de saliva. Contudo, em países como os Estados Unidos, já existem pesquisas sobre a implementação de testes que utilizam o DNA coletado na saliva para detectar doenças genéticas (Green et al., 2023; Ceyhan-Birsoy et al., 2019), conhecido pelos autores brasileiros como “teste da bochechinha” (Medeiros & Silva, 2022).

Uma pesquisa sobre anemias neonatais determinou que apenas 1 mL da amostra do sangue do bebê pode ser responsável por mais de 1% de seu volume sanguíneo total, e essa perda mínima poderia resultar em uma anemia iatrogênica (Huang et al., 2024). A anemia em RN pode resultar em complicações graves como insuficiência cardíaca, desconforto respiratório e falência múltipla de órgãos. A longo prazo há o comprometimento do desenvolvimento neurocognitivo e maior suscetibilidade a infecções (Tilahun et al., 2022). Diante da saúde dos neonatos e das triagens aplicadas, torna-se crucial investigar métodos de avaliação do estado fisiológico de neonatos de forma não invasiva e indolor. O intuito não é desconsiderar os testes já existentes, mas sim investigar o potencial uso da saliva como amostra biológica alternativa e complementar para as análises. Assim, o objetivo deste trabalho é investigar os biomarcadores na saliva de neonatos, suas possíveis previsões e métodos de utilização para avaliação da saúde neonatal.

2. Metodologia

Este trabalho realizou uma investigação documental de fonte indireta do tipo revisão em artigos científicos (Snyder, 2019), em um estudo de natureza quantitativa em relação à quantidade de vinte e um artigos que foram selecionados para compor o “corpus” da pesquisa e, de natureza qualitativa em relação às discussões realizadas em relação aos artigos escolhidos (Pereira et al., 2018). Segundo Gil (2002, p. 43), o propósito da pesquisa qualitativa é “[...] aumentar a familiaridade com o problema, tornando-o mais claro ou formulando hipóteses”. Dessa forma, buscou-se investigar os biomarcadores na saliva de neonatos, suas possíveis previsões e métodos de utilização para avaliação da saúde neonatal.

A investigação foi realizada por meio de uma revisão bibliográfica do tipo integrativa. Conforme Gil (2002), essa modalidade de pesquisa é “[...] desenvolvida a partir de material previamente produzido, principalmente livros e artigos científicos”. Fonseca (2002) complementa apontando que esse método se destina à busca de referências teóricas já publicadas, visando reunir informações e conhecimentos sobre um determinado problema, possibilitando sua melhor compreensão e contribuindo para embasar a busca por soluções.

Para isso, foram selecionados estudos a partir das seguintes bases de dados: a) Catálogo de Dissertações e Teses da CAPES; b) Portal de Periódicos CAPES; c) PubMed; d) SCOPUS. Os estudos foram identificados utilizando os seguintes descritores em português e inglês: “Biomarcadores” AND “saliva”; “biomarcadores” AND “saliva” AND “neonatos”. Os critérios de inclusão foram: estudos produzidos nos últimos cinco anos a fim de obter informações recentes, disponíveis online e com acesso gratuito; estudos que utilizaram saliva como amostra biológica; estudos realizados com neonatos. Os critérios de exclusão foram: estudos produzidos há mais de cinco anos, não disponíveis online e sem acesso aberto; estudos que não utilizaram a saliva como amostra biológica; estudos que não envolveram neonatos.

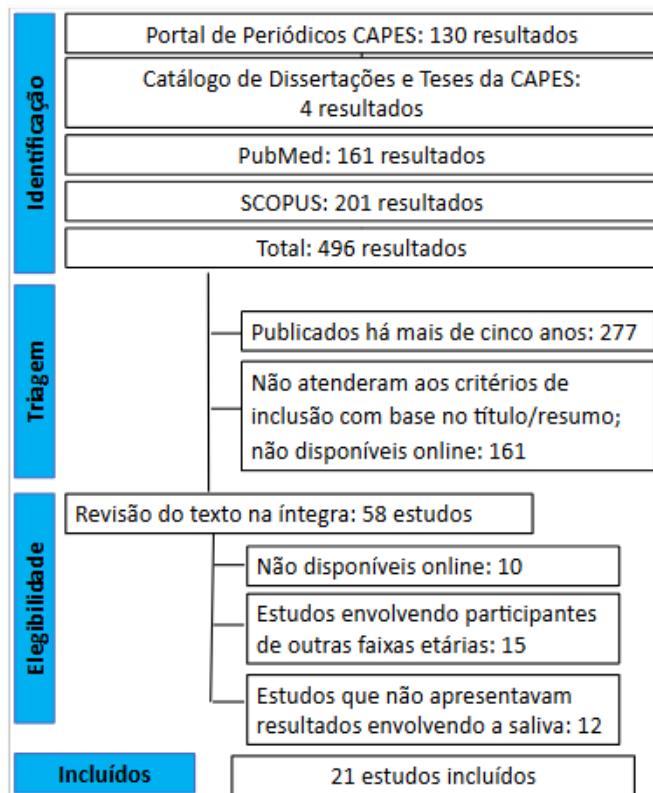
Para o processo de identificação, triagem e elegibilidade, foi utilizado o aplicativo Rayyan, que oferece um sistema de

organização e gerenciamento dos artigos a fim de facilitar a triagem, seleção e leitura. Com esse aplicativo, foi possível analisar os artigos perante título, resumo com uma dupla triagem às cegas e, posteriormente, na íntegra. Além disso, os passos para o detalhamento da revisão integrativa e elaboração do fluxograma da pesquisa foram seguidos de acordo com o preconizado pelo Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) fluxograma (Page et al., 2021). Os estudos selecionados foram analisados considerando o biomarcador identificado na saliva de neonatos, suas possíveis predições e a metodologia utilizada para sua detecção.

3. Resultados

A Figura 1 apresenta o fluxograma com as etapas realizadas nas buscas.

Figura 1 - Fluxograma da triagem e seleção de estudos.



Fonte: Elaborado pelos Autores.

A Figura 1 apresenta o fluxograma da pesquisa realizada. Ressalta-se que o fluxograma compila e mostra a soma de todos os resultados encontrados, provenientes das pesquisas de cada descritor em cada banco de dados específico. Assim, para exemplificar, a soma dos resultados encontrados na busca por “Biomarcadores” AND “saliva” (descritor 1) e “biomarcadores” AND “saliva” AND “neonatos” (descritor 2), em suas versões em português e inglês, no banco de dados Portal de Periódicos CAPES, foi de cento e trinta resultados. Ao total, após processo de identificação, triagem e elegibilidade, um total de 21 artigos foram incluídos para a análise.

Quadro 1 - Síntese das informações sobre os estudos incluídos.

Autores	Ano de Publicação	Título de Artigo	Revista
Abed, Behiry & El-Aty	2023	<i>The Role of Salivary C-Reactive Protein in Diagnosis of Neonatal Sepsis</i>	<i>Journal of Neonatology</i>
Barekatain et al.	2021	<i>Investigation of salivary C-reactive protein and interleukin-18 for the diagnosis of neonatal sepsis</i>	<i>Journal of Research in Medical Sciences: The Official Journal of Isfahan University of Medical Sciences</i>
Bartolome et al.	2020	<i>The Utility of Speech-Language Biomarkers to Predict Oral Feeding Outcomes in the Premature Newborn.</i>	<i>American journal of speech-language pathology</i>
Chen et al.	2020	<i>A novel method to detect bacterial infection in premature infants: Using a combination of inflammatory markers in blood and saliva.</i>	<i>Journal of microbiology, immunology, and infection/ Weimian yu gan ran za zhi</i>
Datla, Kitchanan & Sethuraman	2021	<i>Diagnostic Reliability of Salivary C-Reactive Protein as an Alternative Noninvasive Biomarker of Neonatal Sepsis</i>	<i>Indian pediatrics</i>
Gomes et al.	2024	<i>Validation of Gene Expression Patterns for Oral Feeding Readiness: Transcriptional Analysis of Set of Genes in Neonatal Salivary Samples.</i>	<i>Genes</i>
Gomes et al.	2025	<i>FOXP2 Expression and Oral Feeding Success in Preterm Infants: Sex 2 Differences.</i>	<i>Genes</i>
Iavarone et al.	2025	<i>Characterization of N-Terminal Acetylated α-Hemoglobin Stabilizing Protein (AHSP) by Top-Down High-Resolution Mass Spectrometry From Human Preterm Newborns Oral Fluid.</i>	<i>Rapid communications in mass spectrometry: RCM</i>
Knudsen et al.	2024	<i>Meconium as an Analyte for Androgen Exposure: Analysis Through Varying Maternal-Fetal Biomarkers</i>	<i>Developmental psychobiology</i>
Lin et al.	2021	<i>Directed Transport of CRP Across In Vitro Models of the Blood-Saliva Barrier Strengthens the Feasibility of Salivary CRP as Biomarker for Neonatal Sepsis.</i>	<i>Pharmaceutics</i>
McCarty et al.	2024	<i>Infant massage as a stress management technique for parents of hospitalized extremely preterm infants</i>	<i>Infant mental health journal</i>
Metwali et al.	2024	<i>Salivary C-reactive protein and mean platelet volume as possible diagnostic markers for late-onset neonatal pneumonia.</i>	<i>World journal of clinical pediatrics</i>
Omran et al.	2021	<i>Salivary Interleukin-6 and C-Reactive Protein/Mean Platelet Volume Ratio in the Diagnosis of Late-Onset Neonatal Pneumonia.</i>	<i>Journal of immunology research</i>
Omran et al.	2021	<i>Salivary and Serum Interleukin-10, C-Reactive Protein, Mean Platelet Volume, and CRP/MPV Ratio in the Diagnosis of Late-Onset Neonatal Sepsis in Full-Term Neonates.</i>	<i>Journal of immunology research</i>
Pourkaviani et al.	2020	<i>Clinical validation of the Neonatal Infant Stressor Scale with preterm infant salivary cortisol</i>	<i>Pediatric research</i>
Rocha et al.	2024	<i>Identification of Inflammatory Mediators in Saliva Samples from Hospitalized Newborns: Potential Biomarkers?</i>	<i>Clinical nursing research</i>
Rodriguez, Vinin & Bloch-Salisbury.	2020	<i>Salivary cortisol levels as a biomarker for severity of withdrawal in opioid-exposed newborns.</i>	<i>Pediatric research</i>

Siddaiah et al.	2022	<i>Early Salivary miRNA Expression in Extreme Low Gestational Age Newborns</i>	<i>Life (Basel, Switzerland)</i>
Solaz-García et al.	2021	<i>Non-invasive monitoring of saliva can be used to identify oxidative stress biomarkers in preterm and term newborn infants</i>	<i>Acta paediatrica</i>
Su et al.	2021	<i>Salivary cytokine - A non-invasive predictor for bronchopulmonary dysplasia in premature neonates.</i>	<i>Cytokine</i>
Tosson et al.	2021	Evaluation of serum and salivary C-reactive protein for diagnosis of late-onset neonatal sepsis: A single center cross-sectional study.	<i>Jornal de pediatria</i>

Fonte: Elaborado pelos Autores.

Os 21 estudos incluídos foram lidos na íntegra, de forma a identificar os biomarcadores identificados na saliva, suas possíveis previsões e a metodologia utilizada para sua detecção. Para melhor organização, os biomarcadores identificados nos estudos foram enquadrados em quatro categorias distintas, quais sejam: Categoria 1 - Expressão gênica de genes específicos; Categoria 2 - Citocinas; Categoria 3 - Hormônios; Categoria 4 - Outras proteínas.

O Quadro 2 sistematiza os biomarcadores encontrados na Categoria 1, suas possíveis previsões, métodos utilizados para suas identificações e referências dos estudos em que foram mapeados.

Quadro 2 - Síntese de informações sobre os biomarcadores da Categoria 1.

Categoria 1 - Expressão gênica de genes específicos			
Biomarcadores	Possíveis previsões	Métodos utilizados	Referências
GENE <i>AMPK</i>	Regula o metabolismo celular e mantém a homeostase energética em níveis celular e sistêmico. Sua expressão diminui ao longo dos estágios de alimentação.	RT-QPCR	(Gomes et al., 2024)
GENE <i>CNTNAP2</i>	Está associado a atrasos ou ausência de aprendizagem da alimentação oral. Como <i>CNTNAP2</i> é regulado por <i>FOXP2</i> , ajuda a prever os resultados da alimentação oral em bebês prematuros pois, os neonatos expressam esse gene no início da alimentação oral.	RT-QPCR	(Bartolome et al., 2020)
GENE <i>FOXP2</i>	Relacionado com o desenvolvimento da maturidade da alimentação e ajuste fino das habilidades motoras. Afeta a plasticidade das redes neurais. Seu aumento prediz a prontidão para alimentação oral em prematuros no início da alimentação oral completa.	RT-QPCR	(Gomes et al., 2024) (Gomes et al., 2025) (Bartolome et al., 2020)
miRNA	Em RN prematuros extremos, sua expressão crescente revela sobre a regulação, crescimento e a maturação dos órgãos a nível sistêmico e celular, a resposta a tratamentos e ao desenvolvimento da célula. Os miRNA em níveis elevados revelam sobre progressão, gravidade de diversas doenças como a displasia broncopulmonar.	RT-PCR	(Siddaiah et al., 2022)
GENE <i>PLXNA1</i>	Participa na formação de conexões neurais para sucção e deglutição plena, revelando em prematuros a efetividade durante a alimentação oral, quando há expressão aumentada. Influencia a migração e ativação de células dendríticas e células T, modulando respostas imunológicas.	RT-qPCR	(Gomes et al., 2024)
GENE <i>NPHP4</i>	Há associação ao padrão de alimentação oral maduro quando apresenta expressão genética negativa. sua expressão alterada impacta na função renal, absorção e eliminação eficaz de resíduos da alimentação. em	RT-qPCR	(Gomes et al., 2024)

	prematuros pode impactar significativamente a função renal, potencialmente influenciando o equilíbrio de fluidos e eletrólitos essenciais para o crescimento.		
GENE <i>NPY2R</i>	Regulador hipotalâmico da alimentação. sua expressão regula o apetite e modula o gasto energético.. o aumento da expressão de npy2r leva à saciedade, enquanto a diminuição da expressão resulta em fome em neonatos.	RT-qPCR	(Gomes <i>et al.</i> , 2024)
GENE <i>WNT3</i>	É essencial para o desenvolvimento facial e embrionário inicial. Em bebês prematuros, a expressão alterada do gene pode afetar a formação e a função do trato gastrointestinal, impactando a capacidade de alimentação oral e o desenvolvimento subsequente. Em padrão de alimentação oral maduro apresentou expressão gênica negativa.	RT-qPCR	(Gomes <i>et al.</i> , 2024)

Legenda: Gene *AMPK* (5' adenosina monofosfato-proteína quinase ativada); RT-qPCR (*Reverse Transcription Quantitative Polymerase Chain Reaction*); Gene *CNTNAP2* (*contactin-associated protein-like 2*); Gene *FOXP2* (*Forkhead Box P2*); miRNA (*MicroRNA*); RT-PCR (*Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction*); Gene *PLXNA1* (*Plexin A1*); Gene *NPHP4* (*Nefrocistina 4*); Gene *NPY2R* (*receptor Y2 do neuropeptídeo Y*). Fonte: Elaborado pelos Autores.

O Quadro 3 sistematiza os biomarcadores encontrados na Categoría 2, suas possíveis predições, métodos utilizados para suas identificações e referências dos estudos em que foram mapeados.

Quadro 3 - Síntese de informações sobre os biomarcadores da Categoría 2.

Categoría 2 - Citocinas			
Biomarcadores	Possíveis predições	Métodos utilizados	Referências
IFN- α 2	Citocina crucial contra infecção viral. quanto menor o nível de IFN- α 2 em um neonato, maiores são suas chances de infecção viral e maior é seu risco de desenvolver displasia broncopulmonar.	Ensaio <i>multiplex</i> humano	(Su <i>et al.</i> , 2021)
IFN- γ	Pode refletir a condição hemodinâmica, desempenha um papel crucial como modulador das respostas imunes centrais. quanto maior a expressão em neonatos pior a saturação de oxigênio.	Imunoensaio <i>multiplex</i> com microesferas de esferas magnéticas	(Rocha <i>et al.</i> , 2024)
IL-1B	Aumenta em resposta ao estresse. Estimula a produção de outras citocinas, incluindo IL-6. Quanto maior a expressão, menor a temperatura axilar e frequência respiratória, e uma maior pressão arterial diastólica. Altera mecanismos periféricos de controle respiratório que modulam a resposta à hipoxia e à saturação de oxigênio no sangue arterial, correlacionada a asfixia neonatal.	Imunoensaio <i>multiplex</i> com microesferas de esferas magnéticas	(Rocha <i>et al.</i> , 2024)
IL-2	Está correlacionada com a frequência respiratória e a pressão arterial. Quanto maior a expressão, menor a temperatura axilar e frequência respiratória, e uma maior pressão arterial diastólica.	Imunoensaio <i>multiplex</i> com microesferas de esferas magnéticas	(Rocha <i>et al.</i> , 2024)
IL-4	Reflete a condição hemodinâmica, quanto maior a expressão, menor a frequência respiratória e saturação de oxigênio.	Imunoensaio <i>multiplex</i> com microesferas de esferas magnéticas	(Rocha <i>et al.</i> , 2024)
IL-6	Citocina pró-inflamatória precoce e sensível, tem um papel na resposta inicial do hospedeiro à infecção, suas alterações no nível sanguíneo precedem as da PCR para o monitoramento da sepse.	Imunoensaio <i>multiplex</i> com microesferas de esferas magnéticas;	(Rocha <i>et al.</i> , 2024) (Omran <i>et al.</i> , 2021) (Su <i>et al.</i> , 2021)

	Aparece no diagnóstico e/ou prognóstico de sepse tardia, apendicite, pneumonia, infecção bacteriana e displasia broncopulmonar grave. Aumenta em resposta ao estresse e é observada correlação negativa com a temperatura axilar e frequência respiratória.	Kit comercial a elisa; Ensaio <i>multiplex</i> humano utilizando imunoensaios multiplexados baseados em microesferas fluorescentes	(Chen <i>et al.</i> , 2020)
IL-8	As concentrações elevadas podem indicar displasia broncopulmonar. É observado no inicio da infecção bacteriana.	Imunoensaio <i>multiplex</i> com microesferas de esferas magnéticas	(Su <i>et al.</i> , 2021) (Chen <i>et al.</i> , 2020)
IL-10	Aumenta em resposta ao estresse. ocorre durante a segunda fase da sepse neonatal, ativa os mecanismos imunossupressores. desempenha papel no diagnóstico precoce de infecções, sepse neonatal tardia, displasia broncopulmonar grave e pode refletir a condição hemodinâmica.	Ensaio imunoenzimático (ELISA); Imunoensaio <i>multiplex</i> com microesferas de esferas magnéticas; Ensaio <i>multiplex</i> humano utilizando imunoensaios multiplexados baseados em microesferas fluorescentes.	(Omran <i>et al.</i> , 2021) (Rocha <i>et al.</i> , 2024) (Su <i>et al.</i> , 2021) (Chen <i>et al.</i> , 2020)
IL-12	Pode refletir a condição hemodinâmica. Quanto maior a expressão, menor a saturação de oxigênio periférica.	Imunoensaio <i>multiplex</i> com microesferas de esferas magnéticas	(Rocha <i>et al.</i> , 2024)
IL-17	Correlação negativa com frequência respiratória e saturação de oxigênio. Correlação positiva com pressão arterial diastólica. Há efeito protetor para displasia broncopulmonar sendo esse maior do que o efeito inflamatório.	Imunoensaio <i>multiplex</i> com microesferas de esferas magnéticas; Ensaio <i>multiplex</i> humano.	(Rocha <i>et al.</i> , 2024) (Su <i>et al.</i> , 2021)
MIP-1 α	Observado no inicio e durante (com aumento proporcional da expressão) a infecção bacteriana.	Imunoensaios multiplexados baseados em microesferas fluorescentes.	(Chen <i>et al.</i> , 2020)
MIP-1 β	Observado no inicio e durante (com aumento proporcional da expressão) a infecção bacteriana.	Imunoensaios multiplexados baseados em microesferas fluorescentes.	(Chen <i>et al.</i> , 2020)
TNF- α	Observados no inicio da infecção bacteriana.	Imunoensaios multiplexados baseados em microesferas fluorescentes.	(Chen <i>et al.</i> , 2020)
TNF	Demonstra uma correlação positiva com a pressão arterial diastólica e exibe correlação negativa com a frequência cardíaca e temperatura axilar.	Imunoensaio <i>multiplex</i> com microesferas de esferas magnéticas	(Rocha <i>et al.</i> , 2024)
VEGF	Associada à síndrome do desconforto respiratório e à displasia broncopulmonar. Pode refletir a condição hemodinâmica pois apresenta correlações positivas com a pressão arterial e uma correlação negativa com a frequência respiratória.	Imunoensaio <i>multiplex</i> com microesferas de esferas magnéticas	(Rocha <i>et al.</i> , 2024)

Legenda: IFN- α 2 (Interferon alfa 2); IFN- γ (Interferon gama); IL-1 β (Interleucina 1-beta); IL2 (Interleucina-2); IL-4 (Interleucina-4); IL-6 (Interleucina-6); ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay); IL-8 (Interleucina-8); IL-10 (Interleucina-10); IL-12 (Interleucina 12); IL-17 (Interleucina-17); MIP-1 α (Proteína inflamatória de macrófagos-1 α); MIP-1 β (Proteína inflamatória de macrófagos-1 β); TNF- α (Fatores de necrose tumoral alfa); TNF (Fatores de necrose tumoral); VEGF (Fator de crescimento endotelial vascular). Fonte: Elaborado pelos Autores.

O Quadro 4 sistematiza os biomarcadores encontrados na Categoria 3, suas possíveis predições, métodos utilizados para suas identificações e referências dos estudos em que foram mapeados.

Quadro 4 - Síntese de informações sobre os biomarcadores da Categoria 3.

Categoria 3 - Hormônios			
Biomarcadores	Possíveis previsões	Métodos utilizados	Referências
Cortisol	Resposta aguda ao estresse do bebê. Os níveis de cortisol salivar podem ser um marcador objetivo da gravidade da abstinência em bebês de mães usuárias de drogas.	Ensaio de quimioluminescência conjugado de cortisol-biotina como traçador; Imunoensaio enzimático de cortisol; Ensaio multiplex humano <i>Salimetrics®</i> .	(Pourkaviani <i>et al.</i> , 2020) (Rodriguez, Vining M, Bloch-Salisbury E. 2020) (McCarty <i>et al.</i> , 2023)
Testosterona	Revela sobre a exposição fetal a hormônios androgénicos	Imunoensaios enzimáticos <i>Salimetrics®</i>	(Knudsen <i>et al.</i> , 2024)

Fonte: Elaborado pelos Autores.

O Quadro 5 sistematiza os biomarcadores encontrados na Categoria 4, suas possíveis previsões, métodos utilizados para suas identificações e referências dos estudos em que foram mapeados.

Quadro 5 - Síntese de informações sobre os biomarcadores da Categoria 4.

Categoria 4: Outras proteínas			
Biomarcadores	Possíveis previsões	Métodos utilizados	Referências
AHSP	Correlação positiva entre a presença no fluido oral de prematuros e número de transfusões necessárias durante a hospitalização. A detecção esporádica nas amostras está associada a um estado mais grave de anemia, que requer transfusão de hemácias.	Sistema <i>Ultimate 3000 RSLC-nano®</i> acoplado ao espectrômetro de massas.	(Iavarone <i>et al.</i> , 2025)
PCR	Sua presença indica sepse neonatal.	Imunoturbidimétrico com o analisador <i>Roche Cobas c series®</i> ; Kit de imunoensaio enzimático <i>Salimetrics®</i> ; Kit elisa indireto em sanduíche; ELISA; Kit de PCR humana da <i>sun red biotechnology®</i> método ELISA; Dosagem com kits fabricados pela <i>Hangzhou Eastbiopharm®</i>	(Datla <i>et al.</i> , 2021) (Lin <i>et al.</i> , 2021) (Abed <i>et al.</i> , 2023) (Barekatain <i>et al.</i> , 2021) (Metwali <i>et al.</i> , 2024) (Tosson <i>et al.</i> , 2021)

5-F2T isoprostane	Sua presença indica estresse oxidativo.	Sistema cromatográfico e espectrômetro de massas em tandem.	(Solaz-García <i>et al.</i> , 2021)
15-E2T isoprostane	Sua presença indica estresse oxidativo	Sistema cromatográfico e espectrômetro de massas em tandem.	(Solaz-García <i>et al.</i> , 2021)
prostaglandin E2	Sua presença indica estresse oxidativo	Sistema cromatográfico e espectrômetro de massas em tandem.	(Solaz-García <i>et al.</i> , 2021)
prostaglandin F2α	Sua presença indica estresse oxidativo.	Sistema cromatográfico e espectrômetro de massas em tandem.	(Solaz-García <i>et al.</i> , 2021)

Legenda: AHSP (Proteína estabilizadora da alfa-hemoglobina); PCR (Proteína C-reativa). Fonte: Elaborado pelos Autores.

4. Discussão

A busca por técnicas não invasivas que permitam monitorar e diagnosticar condições neonatais, especialmente em prematuros, é uma necessidade reconhecida há décadas na medicina neonatal, conforme evidenciado por Yen, Kaneko-Tarui e Maron (2021). Os autores comentam que na frágil população neonatal, a saliva apresenta-se como biofluído ideal para avaliar a saúde do neonato, oferecendo diversas vantagens em relação às amostras de sangue obtidas de maneira invasiva. Corroborando com essas informações, Marin (2016) argumenta que a saliva é uma fonte diversificada de macromoléculas como material genético (DNA e RNA), metabólitos, microrganismos e proteínas. Trata-se de um biofluído obtido de forma não invasiva e com possibilidade de coleta sob demanda e repetidamente, em um curto período. Além disso, comenta que a análise desse líquido corporal pode informar aos pesquisadores sobre a saúde geral e as doenças sistêmicas do indivíduo (Marin, 2016).

Na presente pesquisa, foram investigados estudos atuais que abordassem biomarcadores na saliva de neonatos, suas possíveis predições e métodos de utilização para avaliação da saúde neonatal. Os resultados apontam para quatro categorias de biomarcadores na saliva: Categoria 1 - Expressão gênica de genes específicos; Categoria 2 - Citocinas; Categoria 3 - Hormônios; Categoria 4 - Outras proteínas.

A Categoria 1, dos biomarcadores relacionados à expressão gênica de genes específicos, teve como principais representantes, os seguintes: Gene *AMPK*, gene *CNTNAP2*, gene *FOXP2*, gene *PLXNA1*, gene *NPHP4*, gene *NPY2R*, gene *WNT3*, e miRNA.

Conforme disposto no Quadro 1, o estudo de Siddaiah *et al.* (2022), realizado em RN prematuros extremos, correlacionou sua expressão crescente com a regulação, crescimento e a maturação dos órgãos a nível sistêmico e a nível celular em relação ao movimento, à resposta a tratamentos e ao desenvolvimento das células. Além disso, níveis elevados relacionam-se com a progressão e a gravidade de diversas doenças como a displasia broncopulmonar. Outros estudos, como o de Zhu *et al.* (2025), aponta que o biomarcador miRNA pode ser usado para rastreamento, monitoramento de eficácia diagnóstica e tratamento da Síndrome da Apneia-Hipopneia Obstrutiva do Sono (SAHOS).

Os principais métodos para detectar biomarcadores da Categoria 1 são o RT-qPCR, utilizado na detecção de sete biomarcadores, e o RT-PCR, empregado na detecção de um biomarcador. A de RT-qPCR é uma técnica que amplifica RNA alvo de forma exponencial, utilizando primers oligonucleotídeos específicos para cada sequência. Inicialmente, o RNA é

transcrito em DNA complementar (cDNA) pela enzima transcriptase reversa a partir do RNA total ou RNA mensageiro (mRNA). Após, o cDNA é usado como molde para a reação de qPCR. Durante a reação, a quantidade de DNA amplificado é monitorada em tempo real, fornecendo informações sobre o nível de expressão gênica (Toldra & Wu, 2021). Em contrapartida, a técnica de RT-PCR também é capaz de fornecer informações sobre a expressão gênica, no entanto, não permite a quantificação da expressão. De acordo com Marin (2016), a transcriptômica, ou seja, o estudo das moléculas de RNA e consequentemente da expressão gênica, apresenta potencial para aprimorar o monitoramento da saúde do recém-nascido, podendo ser realizada de forma não invasiva ao se utilizar amostra de saliva. Afirma, ainda, que o aprofundamento da compreensão sobre os mecanismos regulatórios da transcrição pode identificar novas possibilidades de intervenção e terapia em crianças prematuras (Marin, 2016).

A Categoria 2, dos biomarcadores citocinas, teve como principais representantes, os seguintes: IFN- α 2, IFN- γ , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-17, MIP-1 α , MIP-1 β , TNF- α , TNF, VEGF.

Conforme visto no Quadro 2, quando a IL-1 β é elevada em neonatos, há um estímulo à produção de outras citocinas, como a IL-6. A sua alta expressão é correlacionada a menor a temperatura axilar e frequência respiratória, e uma maior pressão arterial diastólica, além de estabelecer uma correlação com mecanismos periféricos de controle respiratório que modulam a resposta à hipóxia e à saturação de oxigênio no sangue arterial, em resposta à asfixia neonatal (Rocha *et al.*, 2024). Em adultos, a presença de IL-1 β , é usada para detecção e diagnóstico de tuberculose ativa (Brasier *et al.*, 2021), detecção da doença do enxerto versus hospedeiro (Diesch *et al.*, 2021) e como indicador de inflamação sistêmica (Mulder *et al.*, 2023).

A IL-6, em neonatos, aparece na resposta inicial do hospedeiro à infecção, sepse tardia, pneumonia (Omran *et al.*, 2021), apendicite, infecção bacteriana (Rocha, *et al.*, 2024) e displasia broncopulmonar grave (Su *et al.*, 2021) e suas alterações no nível sanguíneo precedem as da PCR para o monitoramento da sepse neonatal, com correlação negativa com a temperatura axilar e a frequência respiratória (Rocha *et al.*, 2024). Em adultos, é usada como biomarcador para indicar inflamação sistêmica (Mulder *et al.*, 2023) e para mensurar citocinas (Al Habobe *et al.*, 2024).

Em RN, quando a IL-8 encontra-se em concentrações elevadas, pode indicar displasia broncopulmonar (Su *et al.*, 2021) ou início de infecção bacteriana (Chen *et al.*, 2020). Para a detecção de câncer bucal e carcinoma espinocelular oral em adultos, Gulati *et al.* (2023) escolheram a IL-8 que, tal qual a IL-6, também é usada como indicador de inflamação sistêmica (Mulder *et al.*, 2023).

Em neonatos, a presença de IL-10 ocorre predominantemente durante a segunda fase da sepse neonatal, o que ativa os mecanismos imunossupressores (Omran *et al.*, 2021), além de desempenhar um papel importante no diagnóstico precoce de infecções (Chen *et al.*, 2020), sepse neonatal tardia, displasia broncopulmonar grave (Su *et al.*, 2021), podendo refletir a condição hemodinâmica (Rocha *et al.*, 2024). A IL-10 também é considerada por Mulder *et al* (2023) como um indicador de inflamação sistêmica em adultos.

A IL-12, em neonatos, pode refletir a condição hemodinâmica: quanto maior a expressão, menor a saturação de oxigênio periférica (Rocha *et al.*, 2024). Foi usada em pesquisa com adultos para Diagnóstico de Síndrome de Sjögren (Castelli *et al.*, 2024).

O TNF, em RN, é observado no início da infecção bacteriana (Chen *et al.*, 2020), além de demonstrar uma correlação positiva com a pressão arterial diastólica e exibir uma correlação negativa com a frequência cardíaca e temperatura axilar. Sugere-se que isso ocorra por estarem envolvidos em interações neuroimunes em regiões cerebrais responsáveis pela regulação central da respiração (Rocha *et al.*, 2024). Indicam inflamação sistêmica (Mulder *et al.*, 2023) e podem ser usados para o diagnóstico de síndrome de Sjögren (Castelli *et al.*, 2024) em adultos.

Alguns biomarcadores mapeados também são usualmente detectados por exames de sangue (especialmente no soro). O TNF, mensurado pelo método ELISA, se correlaciona positivamente com hipertensão pulmonar persistente do recém-nascido junto com IL-6 (Tang *et al.*, 2019) e com casos de teste de provação oral (TPO) positivos com alimentos no RN, mensurado com citometria de fluxo com o *kit* de imunoensaio em conjunto com a IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IFN- γ (Kimura *et al.*, 2017). A IL-6, identificada com o método ELISA, é inversamente proporcional com a catelicidina (LL37), um fator protetor independente para displasia broncopulmonar (Ren *et al.*, 2022). Já a IL-4, foi identificada no soro de RN com Síndrome de Netherto, em conjunto com a linfopoietina estromal tímica (TSLP), IL33 e IL25, que produzem níveis elevados IgE, células T auxiliares 2 (TH2)/IL4/IL5, IL13 e IL31 e ativação de células linfoides inatas de tipo 2 (ILC2s) (Niehues; Hardenberg; Velleuer, 2024). Brooks *et al.* (2023), em uma tentativa de determinar a concentração sérica de associados à lesão cerebral em neonatos, constataram que no período inflamatório da lesão, a IL-8 aumenta de forma proporcional ao desenvolvimento gestacional normal. Outra técnica utilizada para avaliar o aumento de IL-8 e IFN- γ , ainda com o uso de soro, é a técnica de fluorocromo *multiplex*, usado com objetivo de avaliar a cinética dos biomarcadores para sepse neonatal (Bengnér *et al.*, 2021). Além disso, a IL-8 também é utilizada para detectar o desenvolvimento da retinopatia da prematuridade com ensaio *multiplex Luminex* em conjunto com IL-17 (Golubinskaya *et al.*, 2024). Com este mesmo método, Pang e autores (2022) corroboram o potencial da IL-10 como biomarcador de desfechos adversos após encefalopatia neonatal.

O método mais utilizado para a detecção das citocinas, encontradas nos estudos mapeados e incluídas na Categoria 2, foi o método de Imunoensaio Multiplex com microesferas magnéticas, adotado na detecção de dez citocinas mapeadas. Este método utiliza microesferas revestidas com magneto para capturar múltiplos analitos (biomarcadores) simultaneamente em uma única reação (Kim *et al.*, 2010). O método de imunoensaio *multiplex* com microesferas fluorescentes foi o segundo mais utilizado, adotado na detecção de seis citocinas identificadas. Esse método contempla um conjunto de microesferas que são marcadas com uma combinação única de cores fluorescentes, permitindo detecção simultânea de múltiplos biomarcadores (Li, 2019). Alguns estudos citaram a detecção por imunoensaio *multiplex*, mas sem detalhar qual método específico foi utilizado. Os imunoensaios são métodos analíticos que dependem da ligação de um anticorpo específico ao seu antígeno correspondente (Moo-Young & Murray, 2011). Por fim, alguns estudos utilizaram o método imunoenzimático ELISA, o qual detecta biomarcadores por meio de uma reação enzimática que culmina em mudanças na coloração (Franco *et al.*, 2021). Tal qual no sangue, percebe-se que existem pesquisas que utilizam do mesmo método e para detecção do mesmo biomarcador, porém com o uso de amostras distintas.

A Categoria 3, dos hormônios, teve como principais representantes, os seguintes: cortisol e testosterona. Em adultos, o cortisol é usado como biomarcador no intuito de detectar hormônios (Al Habobe *et al.*, 2024) e mensurar o estresse esteroidal (Kataoka; Ohshima; Ohkawa, 2022). Dentre eles: o ensaio de quimioluminescência conjugado de cortisol-biotina como traçador, na qual a 3-(o-carboximetil)oxima de cortisol (C3-CMO) e um derivado de biotina-hidrazida que formam um conjugado C3-CMO-biotina. A C3-CMO, em uma segunda etapa da reação, interage com o derivado de hidrazida da biotina (Dressendorfer *et al.*, 1992); Outro método de detecção do cortisol citado é o imunoensaio enzimático de cortisol e o ensaio *multiplex* humano Salimetrics®. Este é um kit de imuno adsorção competitiva, na qual o cortisol padrão compete com o cortisol conjugado à peroxidase para os locais de ligação do anticorpo em uma placa de microtitulação. O cortisol ligado ao conjugado enzimático é medido pela reação da enzima peroxidase de rábano com o substrato tetrametilbenzidina (TMB) que produz uma cor. Já para a detecção de testosterona, que é usado como biomarcador no intuito de detectar hormônios nos RN a fim de avaliar a exposição dos mesmos a andrógenos durante a gestação (Knudsen *et al.*, 2024) foi utilizado o imunoensaio enzimático Salimetrics®, que semelhante aos outros imunoensaios, é um kit de imunoensaio competitivo na qual a testosterona compete com a testosterona conjugada à peroxidase de rábano para os locais de ligação do anticorpo na placa. A testosterona

conjugada à enzima é medida pela reação da enzima peroxidase de rábano com o substrato tetrametilbenzidina (TMB) e produz cor. A quantidade de testosterona conjugada à enzima detectada é inversamente proporcional à quantidade de testosterona presente na amostra.

Por fim, a Categoria 4, referente à outras proteínas encontradas, teve como principais representantes, os seguintes: AHSP, PCR, 5-F2t isoprostane, 15-E2t isoprostane, prostaglandin E2, prostaglandin F2 α .

A PCR salivar em adultos é usada para indicadores de inflamação sistêmica (Mulder *et al.*, 2023), assim como indicam as pesquisas mapeadas em neonatos, na qual sugerem que a presença aumentada de PCR salivar indica sepse neonatal (Datla *et al.*, 2021; Lin *et al.*, 2021; Abed *et al.*, 2023; Barekatain *et al.*, 2021; Metwali *et al.*, 2024). Já a PCR sérica indica infecção de início tardio (Brown *et al.*, 2019) e pode sugerir enterocolite necrosante (Mohd Amin *et al.*, 2021). No estudo de Tossion *et al.* (2021), ao compararem a PCR salivar com a sérica, concluíram que a sérica apresentou alta especificidade e valor preditivo positivo no diagnóstico de sepse neonatal tardia, enquanto os níveis de PCR salivar não previram limiares anormais de PCR sérica em recém-nascidos com sepse. Já Metwali *et al.* (2024), também no intuito de investigar a sepse neonatal, encontraram justamente o contrário. A PCR salivar demonstrou-se com excelente valor preditivo para os níveis séricos da PCR sérica e ainda ressaltaram seu potencial como ferramenta diagnóstica.

O principal método utilizado para a detecção das proteínas da Categoria 4, nos estudos mapeados, foi o sistema cromatográfico e espectrômetro de massas em *tandem*. Trata-se de uma técnica na qual a amostra é preparada para ser injetada em uma coluna cromatográfica e separada no tempo com base na interação do conteúdo da amostra com a coluna e com os solventes que também passam pela coluna. Após, a amostra é ionizada e o espectrômetro de massas é usado para detectar os analitos com base na relação massa e carga (Gerona; French, 2022). Atualmente, esta é a técnica padrão para análise proteômica, oferecendo um método robusto para análise em larga escala e com alto rendimento (Vasan; Sawyer & Baliga, 2018). O método de imunoensaio enzimático também foi utilizado para dosagem de proteína C-reativa.

Apesar do potencial da utilização da saliva nas análises da saúde, Yen, Kaneko-Tarui e Maron (2021) discutem alguns principais desafios na adoção dessa amostra. O primeiro refere-se aos biomarcadores conhecidos, que exigem extensas análises comparativas entre sangue e saliva para validar a equivalência informativa, embora não se deva presumir a superioridade do sangue em relação a outros biofluidos. Outro desafio, ainda mais complexo, envolve os novos biomarcadores, em que a ausência de dados de correlação sanguínea não elimina a necessidade de rigorosa validação clínica; pelo contrário, exige do pesquisador a realização de centenas ou milhares de análises salivares para controlar variáveis e demonstrar à comunidade médica que o biomarcador salivar efetivamente contribuirá para a tomada de decisões clínicas e para fins de tratamento, criando assim um obstáculo tanto metodológico quanto de aceitação profissional.

Entretanto, mesmo com alguns obstáculos, os autores ressaltam que buscam demonstrar a viabilidade, aplicabilidade, confiabilidade e reproduzibilidade do diagnóstico salivar neonatal, indicando o potencial que as análises salivares não invasivas podem exercer no campo da saúde neonatal, abrindo perspectivas promissoras para a superação desses desafios (Yen; Kaneko-Tarui; Maron, 2021).

5. Considerações Finais

Em síntese, o mapeamento de biomarcadores salivares em neonatos revela um panorama promissor, mas ainda em consolidação. As quatro categorias identificadas — expressão gênica, citocinas, hormônios e outras proteínas — demonstram que a saliva apresenta capacidade informativa comparável à do sangue, com vantagens significativas para a população neonatal frágil. A predominância de técnicas *multiplex* (qPCR para expressão gênica e imunoensaios para citocinas) sinaliza uma tendência de evolução metodológica em direção a abordagens mais rápidas, precisas e menos invasivas. Contudo, a efetiva

implementação clínica desses biomarcadores permanece condicionada a três desafios estruturantes: (1) a necessidade de validação comparativa entre saliva e sangue, particularmente para novos biomarcadores; e (2) a aceitação profissional e; (3) padronização de protocolos na comunidade médica. Apesar dessas limitações, o potencial demonstrado pelos estudos analisados sugere que os biomarcadores salivares podem revolucionar o monitoramento neonatal, reduzindo a morbidade associada à coleta de sangue em recém-nascidos prematuros. Pesquisas futuras devem concentrar-se em uma validação clínica e no desenvolvimento de plataformas diagnósticas integradas que possibilitem a consolidação da saliva como ferramenta de referência na medicina neonatal contemporânea.

Referências

- Abed, N. T., Behiry, E. G., & El-Aty, B. F. A. (2023). The Role of Salivary C-Reactive Protein in Diagnosis of Neonatal Sepsis. *Journal of Neonatology*, 37(1), 31–37. <https://doi.org/10.1177/09732179231151757>
- Al Habobe, H., Haverkort, E. B., Nazmi, K., Van Splunter, A. P., Pieters, R. H. H., & Bikker, F. J. (2024). The impact of saliva collection methods on measured salivary biomarker levels. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, 552, 117628. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2023.117628>
- Barekatain, B., HasanGhalyaei, N., Mohammadizadeh, M., & Tavakolifard, N. (2021). Investigation of salivary C-reactive protein and interleukin-18 for the diagnosis of neonatal sepsis. *Journal of Research in Medical Sciences : The Official Journal of Isfahan University of Medical Sciences*, 26, 131. https://doi.org/10.4103/jrms.JRMS_1256_20
- Bartolome, R., Kaneko-Tarui, T., Maron, J., & Zimmerman, E. (2020). The Utility of Speech-Language Biomarkers to Predict Oral Feeding Outcomes in the Premature Newborn. *American journal of speech-language pathology*, 29(2S), 1022–1029. https://doi.org/10.1044/2019_AJSLP-CSW18-19-0027
- Bengnér, J., Quttineh, M., Gäddlin, P. O., Salomonsson, K., & Faresjö, M. (2021). Serum amyloid A - A prime candidate for identification of neonatal sepsis. *Clinical immunology (Orlando, Fla.)*, 229, 108787. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2021.108787>
- Brasier, N., Osthoff, M., De Ieso, F., & Eckstein, J. (2021). Next-Generation Digital Biomarkers for Tuberculosis and Antibiotic Stewardship: Perspective on Novel Molecular Digital Biomarkers in Sweat, Saliva, and Exhaled Breath. *Journal of medical Internet research*, 23(8), e25907. <https://doi.org/10.2196/25907>
- Brasil. (2014). Lei n. 13.002, de 20 de junho de 2014. Obriga a realização do Protocolo de Avaliação do Frênuco da Língua em Bebês. Brasília, DF: Presidência da República. Disponível em https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2011-2014/2014/lei/l13002.htm
- Brooks, S., Friedes, B. D., Northington, F., Graham, E., Tekes, A., Burton, V. J., Gerner, G., Zhu, J., Chavez-Valdez, R., Vaidya, D., & Everett, A. D. (2023). Serum brain injury biomarkers are gestationally and post-natally regulated in non-brain injured neonates. *Pediatric research*, 93(7), 1943–1954. <https://doi.org/10.1038/s41390-021-01906-8>
- Brown, J. V. E., Meader, N., Cleminson, J., & McGuire, W. (2019). C-reactive protein for diagnosing late-onset infection in newborn infants. *The Cochrane database of systematic reviews*, 1(1), CD012126. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD012126.pub2>
- Castelli, B., Shapoori, S., McMahon, J., & FitzGerald, U. (2024). Measurement of immune and inflammatory biomarkers in serum and saliva in a multiple sclerosis cohort. *Neuroscience Applied*, 3, 104659. <https://doi.org/10.1016/j.nsa.2024.104659>
- Ceyhan-Birsoy, O., Murry, J. B., Machini, K., Lebo, M. S., Yu, T. W., Fayer, S., Genetti, C. A., Schwartz, T. S., Agrawal, P. B., Parad, R. B., Holm, I. A., McGuire, A. L., Green, R. C., Rehm, H. L., Beggs, A. H., & BabySeq Project Team (2019). Interpretation of Genomic Sequencing Results in Healthy and Ill Newborns: Results from the BabySeq Project. *American journal of human genetics*, 104(1), 76–93. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2018.11.016>
- Chen, I. L., Huang, H. C., Ou-Yang, M. C., Chen, F. S., Chung, M. Y., & Chen, C. C. (2020). A novel method to detect bacterial infection in premature infants: Using a combination of inflammatory markers in blood and saliva. *Journal of microbiology, immunology, and infection = Wei mian yu gan ran za zhi*, 53(6), 892–899. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2019.11.002>
- Datla, S., Kitchanan, S., & Sethuraman, G. (2021). Diagnostic Reliability of Salivary C-Reactive Protein as an Alternative Noninvasive Biomarker of Neonatal Sepsis. *Indian pediatrics*, 58(8), 745–748.
- Dias, L. R., Tomasi, Y. T., & Boing, A. F. (2024). The newborn screening tests in Brazil: regional and socioeconomic prevalence and inequalities in 2013 and 2019. *Jornal de pediatria*, 100(3), 296–304. <https://doi.org/10.1016/j.jped.2023.11.008>
- Diesch, T., Filippi, C., Fritschi, N., Filippi, A., & Ritz, N. (2021). Cytokines in saliva as biomarkers of oral and systemic oncological or infectious diseases: A systematic review. *Cytokine*, 143, 155506. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2021.155506>
- Dressendörfer, R. A., Kirschbaum, C., Rohde, W., Stahl, F., & Strasburger, C. J. (1992). Synthesis of a cortisol-biotin conjugate and evaluation as a tracer in an immunoassay for salivary cortisol measurement. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 43(7), 683–692. [https://doi.org/10.1016/0960-0760\(92\)90294-s](https://doi.org/10.1016/0960-0760(92)90294-s)
- Ergünol, E., Şemsiz, R., & Dinçel, A. S. (2024). Age and gender related changes on total antioxidant/oxidant status and electrolyte composition of saliva. *Aspects of Molecular Medicine*, 4, 100054. <https://doi.org/10.1016/j.amolm.2024.100054>
- Fonseca, João José Saraiva. (2002). Metodologia da Pesquisa Científica. Universidade Estadual do Ceará.

- Franco, V. L. de M., Marques, L. de O. C., Diniz, S. G. S., Assunção, V. I. de S., Nogueira, A. B. L., Bragagnolo, J. C. B., Barezani, A. F. B., & Paim, M. J. A. (2021). A técnica de elisa e a sua importância para o diagnóstico clínico / The elisa technique and its importance for clinical diagnosis. *Brazilian Journal of Development*, 7(9), 89877–89885. <https://doi.org/10.34117/bjdv7n9-243>
- Gerona, R. R., & French, D. (2022). Drug testing in the era of new psychoactive substances. *Advances in clinical chemistry*, 111, 217–263. <https://doi.org/10.1016/bs.acc.2022.08.001>
- GIL, A. C. (2002). Como elaborar projetos de pesquisa (4ed.) São Paulo: Atlas.
- Green, R. C., Shah, N., Genetti, C. A., Yu, T., Zettler, B., Uveges, M. K., Ceyhan-Birsoy, O., Lebo, M. S., Pereira, S., Agrawal, P. B., Parad, R. B., McGuire, A. L., Christensen, K. D., Schwartz, T. S., Rehm, H. L., Holm, I. A., Beggs, A. H., & BabySeq Project Team (2023). Actionability of unanticipated monogenic disease risks in newborn genomic screening: Findings from the BabySeq Project. *American journal of human genetics*, 110(7), 1034–1045. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2023.05.007>
- Golubinskaya, V., Nilsson, H., Rydbeck, H., Hellström, W., Hellgren, G., Hellström, A., Sävman, K., & Mallard, C. (2024). Cytokine and growth factor correlation networks associated with morbidities in extremely preterm infants. *BMC pediatrics*, 24(1), 723. <https://doi.org/10.1186/s12887-024-05203-1>
- Gomes, L.H.F, Marques, A. B., DIAS, I.C.M., Gabeira, S.C.O., Barcelos, T.R., Guimarães, M.O., Ferreira, I.R., Guida, L.C., Lucena, S.L & Rocha, A. D. (2024). Validation of Gene Expression Patterns for Oral Feeding Readiness: Transcriptional Analysis of Set of Genes in Neonatal Salivary Samples. *Genes*, 15(7), 936–936. <https://doi.org/10.3390/genes15070936>
- Gomes, L. H. F., Marques, A. B., Dias, I. C. M., Cunha, D. P., Pimenta, H. P., Guida, L. D. C., Lucena, S. L., & Rocha, A. D. (2025). FOXP2 Expression and Oral Feeding Success in Preterm Infants: Sex 2 Differences. *Genes*, 16(2), 190. <https://doi.org/10.3390/genes16020190>
- Gulati, P., Singh, A. K., Yadav, A. K., Pasbola, K., Pandey, P., Sharma, R., Thakar, A., & Solanki, P. R. (2023). Nano-modified screen-printed electrode-based electrochemical immunosensors for oral cancer biomarker detection in undiluted human serum and saliva samples. *Nanoscale advances*, 6(2), 705–721. <https://doi.org/10.1039/d3na00682d>
- Huang, H. B., Lin, Y. B., Chen, J. H., Zhu, M., Chen, L. J., Ye, W., Luo, L. H., & Ye, H. M. (2024). Management of refined and personalized newborn blood specimen collection. *Practical laboratory medicine*, 40, e00408. <https://doi.org/10.1016/j.plabm.2024.e00408>
- Iavarone, F., Tirone, C., Fattore, S., De Tomaso, D., Menzella, N., Vento, G., Olianas, A., Manconi, B., Cabras, T., Guadalupe, G., Contini, C., Boroumand, M., Desiderio, C., Muntiu, A., Fiorita, A., Fraschini, M., Fanos, V., Faa, G., Messana, I., & Castagnola, M. (2025). Characterization of N-Terminal Acetylated α -Hemoglobin Stabilizing Protein (AHSP) by Top-Down High-Resolution Mass Spectrometry From Human Preterm Newborns Oral Fluid. *Rapid communications in mass spectrometry : RCM*, 39(21), e10107. <https://doi.org/10.1002/rcm.10107>
- Janakiraman, S., Sha, R., & Mani, N. K. (2025). Recent advancements in Point-of-Care Detection of Contaminants and Biomarkers in Human Breast Milk: A comprehensive review. *Sensors and Actuators Reports*, 9, 100280. <https://doi.org/10.1016/j.snr.2024.100280>
- Kataoka, H., Ohshima, H., & Ohkawa, T. (2022). Simultaneous analysis of multiple steroid biomarkers in saliva for objective stress assessment by on-line coupling of automated in-tube solid-phase microextraction and polarity-switching LC-MS/MS. *Talanta Open*, 7, 100177. <https://doi.org/10.1016/j.talo.2022.100177>
- Kim, J. S., Taitt, C. R., Ligler, F. S., & Anderson, G. P. (2010). Multiplexed magnetic microsphere immunoassays for detection of pathogens in foods. *Sensing and instrumentation for food quality and safety*, 4(2), 73–81. <https://doi.org/10.1007/s11694-010-9097-x>
- Kimura, M., Ito, Y., Shimomura, M., Morishita, H., Meguro, T., Adachi, Y., Seto, S. (2017). Cytokine profile after oral food challenge in infants with food protein-induced enterocolitis syndrome. *Allergol Int*. Jul;66(3):452-457. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1323893016301708?via%3Dihub>
- Knudsen, N., Tang, S., Lauzon, S., Dhaurali, S., Snyder, N. W., & Voegtle, K. M. (2024). Meconium as an Analyte for Androgen Exposure: Analysis Through Varying Maternal-Fetal Biomarkers. *Developmental psychobiology*, 66(7), e22550. <https://doi.org/10.1002/dev.22550>
- Khurshid, Z., Zafar, M., Khan, E., Mali, M., & Latif, M. (2019). Human saliva can be a diagnostic tool for Zika virus detection. *Journal of infection and public health*, 12(5), 601–604. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2019.05.004>
- LI, G. (2019). Nano-inspired biosensors for protein assay with clinical applications. Amsterdam, Netherlands ; Cambridge, Ma: Elsevier.
- Lin, G. C., Küng, E., Smajlhadzic, M., Domazet, S., Friedl, H. P., Angerer, J., Wisgrill, L., Berger, A., Bingle, L., Peham, J. R., & Neuhaus, W. (2021). Directed Transport of CRP Across In Vitro Models of the Blood-Saliva Barrier Strengthens the Feasibility of Salivary CRP as Biomarker for Neonatal Sepsis. *Pharmaceutics*, 13(2), 256. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13020256>
- Madera Anaya, M. V., & Suárez Causado, A. (2017). Evaluation of two RNA extraction methods in children's saliva. *Revista Odontológica Mexicana*, 21(4), e237–e243. <https://doi.org/10.1016/j.rodmed.2018.01.014>
- Marin J. L. (2016). The Neonatal Salivary Transcriptome. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 6(3), a026369. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a026369>
- McCarty, D., Silver, R., Quinn, L., Dusing, S., & O'Shea, T. M. (2024). Infant massage as a stress management technique for parents of hospitalized extremely preterm infants. *Infant mental health journal*, 45(1), 11–21. <https://doi.org/10.1002/imhj.22095>
- Medeiros, P.D.S., & Da Silva, M.R.B. (2022). Conhecimento dos pais acerca da triagem neonatal. Revista Multidisciplinar do Sertão, v. 4, n. 3, p. 286-295. Disponível em <https://www.revistamultisertao.com.br/index.php/revista/article/view/440/279>
- Metwali, W. A., Elmashad, A. M., Hazzaa, S. M. E., Al-Beltagi, M., & Hamza, M. B. (2024). Salivary C-reactive protein and mean platelet volume as possible diagnostic markers for late-onset neonatal pneumonia. *World journal of clinical pediatrics*, 13(1), 88645. <https://doi.org/10.5409/wjcp.v13.i1.0000>

Mohd Amin, A. T., Zaki, R. A., Friedmacher, F., & Sharif, S. P. (2021). C-reactive protein/albumin ratio is a prognostic indicator for predicting surgical intervention and mortality in neonates with necrotizing enterocolitis. *Pediatric surgery international*, 37(7), 881–886. <https://doi.org/10.1007/s00383-021-04879-1>

Moo-Young, Murray (Ed) (2011). Comprehensive biotechnology. (Vol. 6, 2.ed). Saint Louis, Mo.: Newnes.

Mulder, K. E., van Oostrom, E. C., Verheul, M. C., Hendriksen, P. A., Thijssen, S., Diks, M. A., Kraneveld, A. D., Garssen, J., & Verster, J. C. (2023). The relationship between immune fitness and saliva biomarkers of systemic inflammation. *Brain, behavior, & immunity - health*, 31, 100660. <https://doi.org/10.1016/j.bbih.2023.100660>

Naseem, R., Howe, N., Williams, C. J., Pretorius, S., & Green, K. (2024). What diagnostic tests are available for respiratory infections or pulmonary exacerbations in cystic fibrosis: A scoping literature review. *Respiratory investigation*, 62(5), 817–831. <https://doi.org/10.1016/j.resinv.2024.07.005>

Niehues, T., von Hardenberg, S., & Velleuer, E. (2024). Rapid identification of primary atopic disorders (PAD) by a clinical landmark-guided, upfront use of genomic sequencing. *Allergologie select*, 8, 304–323. <https://doi.org/10.5414/ALX02520E>

Omran, A., Ali, Y., Abdalla, M. O., El-Sharkawy, S., Rezk, A. R., & Khashana, A. (2021). Salivary Interleukin-6 and C-Reactive Protein/Mean Platelet Volume Ratio in the Diagnosis of Late-Onset Neonatal Pneumonia. *Journal of immunology research*, 2021, 8495889. <https://doi.org/10.1155/2021/8495889>

Omran, A., Sobh, H., Abdalla, M. O., El-Sharkawy, S., Rezk, A. R., & Khashana, A. (2021). Salivary and Serum Interleukin-10, C-Reactive Protein, Mean Platelet Volume, and CRP/MPV Ratio in the Diagnosis of Late-Onset Neonatal Sepsis in Full-Term Neonates. *Journal of immunology research*, 2021, 4884537. <https://doi.org/10.1155/2021/4884537>

Page, M. J., McKenzie, J. E., Bossuyt, P. M., Boutron, I., Hoffmann, T. C., Mulrow, C. D., Shamseer, L., Tetzlaff, J. M., Akl, E. A., Brennan, S. E., Chou, R., Glanville, J., Grimshaw, J. M., Hróbjartsson, A., Lalu, M. M., Li, T., Loder, E. W., Mayo-Wilson, E., McDonald, S., McGuinness, L. A., ... Moher, D. (2021). The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ (Clinical research ed.)*, 372, n71. <https://doi.org/10.1136/bmj.n71>

Pang, R., Mujuni, B. M., Martinello, K. A., Webb, E. L., Nalwoga, A., Ssekelyewa, J., Musoke, M., Kurinczuk, J. J., Sewegaba, M., Cowan, F. M., Cose, S., Nakakeeto, M., Elliott, A. M., Sebire, N. J., Klein, N., Robertson, N. J., & Tann, C. J. (2021). Elevated serum IL-10 is associated with severity of neonatal encephalopathy and adverse early childhood outcomes. *Pediatric Research*, 92(1), 180–189. <https://doi.org/10.1038/s41390-021-01438-1>

Pereira, A. S. et al. (2018). Metodologia da pesquisa científica. [ebook gratuito]. Santa Maria: Editora da UFSM.

Pourkaviani, S., Zhang, X., Spear, E. A., D'Agostino, M., Satty, R. E., Liu, S. H., & Stroustrup, A. (2020). Clinical validation of the Neonatal Infant Stressor Scale with preterm infant salivary cortisol. *Pediatric research*, 87(7), 1237–1243. <https://doi.org/10.1038/s41390-019-0713-0>

Ren, Z., Mo, W., Yang, L., Wang, J., Zhang, Q., Zhong, Z., Wei, W., Liu, Z., Wu, Z., Yao, Y., & Yang, J. (2022). Cord blood antimicrobial peptide LL37 levels in preterm neonates and association with preterm complications. *The Italian Journal of Pediatrics/Italian Journal of Pediatrics*, 48(1), 111–111. <https://doi.org/10.1186/s13052-022-01295-6>

Rocha, V. A. D., Cruz-Machado, S. D. S., Silva, I. A., Fernandes, P. A. C. M., Markus, R. P., & Bueno, M. (2024). Identification of Inflammatory Mediators in Saliva Samples From Hospitalized Newborns: Potential Biomarkers?. *Clinical nursing research*, 33(4), 207–219. <https://doi.org/10.1177/10547738241238249>

Rodriguez, N., Vining, M., & Bloch-Salisbury, E. (2020). Salivary cortisol levels as a biomarker for severity of withdrawal in opioid-exposed newborns. *Pediatric research*, 87(6), 1033–1038. <https://doi.org/10.1038/s41390-019-0601-7>

Siddaiah, R., Emery, L., Stephens, H., Donnelly, A., Erkinger, J., Wisecup, K., Hicks, S. D., Kawasawa, Y. I., Oji-Mmuo, C., Amatya, S., & Silveyra, P. (2022). Early Salivary miRNA Expression in Extreme Low Gestational Age Newborns. *Life (Basel, Switzerland)*, 12(4), 506. <https://doi.org/10.3390/life12040506>

Solaz-García, A., Lara-Cantón, I., Peña-Bautista, C., Cháfer-Pericás, C., Cañada-Martínez, A. J., Pinilla-González, A., Vento, M., & Sáenz-González, P. (2021). Non-invasive monitoring of saliva can be used to identify oxidative stress biomarkers in preterm and term newborn infants. *Acta paediatrica (Oslo, Norway : 1992)*, 110(12), 3255–3260. <https://doi.org/10.1111/apa.16073>

Snyder, H. (2019). Literature review as a research methodology: An overview and guidelines. *Journal of Business Research*. 104, 333–9. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jbusres.2019.07.039>

Swetha, P., Balijapalli, U., & Feng, S.-P. (2022). Wireless accessing of salivary biomarkers based wearable electrochemical sensors: A mini-review. *Electrochemistry Communications*, 140, 107314. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2022.107314>

Su, T. Y., Chen, I. L., Yeh, T. F., Yu, H. R., Hsu, Y. L., Hung, C. H., & Huang, H. C. (2021). Salivary cytokine - A non-invasive predictor for bronchopulmonary dysplasia in premature neonates. *Cytokine*, 148, 155616. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2021.155616>

Tang, Z., Jiang, M., Ou-Yang, Z., Wu, H., Dong, S., & Hei, M. (2019). High mobility group box 1 protein (HMGB1) as biomarker in hypoxia-induced persistent pulmonary hypertension of the newborn: a clinical and *in vivo* pilot study. *International journal of medical sciences*, 16(8), 1123–1131. <https://doi.org/10.7150/ijms.34344>

Testosterone Estosterone Enzyme Immunoassay Kit: Expanded Range. (2018). State College, PA: Salimetrics.

Tilahun, D., Yimer, M. A., & Zamanuel, T. G. (2022). High Magnitude of Neonatal Anemia Among Sick Newborns Admitted to University of Gondar Comprehensive Specialized Hospital, Northwest Ethiopia. *Journal of blood medicine*, 13, 293–302. <https://doi.org/10.2147/JBM.S361675>

Toldra, F., WU, J. (2021). Biologically Active Peptides (Vol 1.). United Kingdom: Elsevier.

Tosson, A. M. S., Koptan, D., Abdel Aal, R., & Abd Elhady, M. (2021). Evaluation of serum and salivary C-reactive protein for diagnosis of late-onset neonatal sepsis: A single center cross-sectional study. *Jornal de pediatria*, 97(6), 623–628. <https://doi.org/10.1016/j.jped.2021.01.004>

Triagem neonatal biológica: manual técnico. (2016). Brasil, Brasília: Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Especializada e Temática.

Vasan, R.S., Sawyer, B.D., (2018). Encyclopedia of cardiovascular research and medicine (Vol. 4, ed 1st.). Amsterdam, Netherlands: Elsevier

Yen, E., Kaneko-Tarui, T., & Maron, J. L. (2021). Technical Considerations and Protocol Optimization for Neonatal Salivary Biomarker Discovery and Analysis. *Frontiers in pediatrics*, 8, 618553. <https://doi.org/10.3389/fped.2020.618553>

Zamora-Obando, H. R., Godoy, A. T., Amaral, A. G., Mesquita, A. de S., Simões, B. E. S., Reis, H. O., Rocha, I., Dallaqua, M., Baptista, M., Fernandes, M. C. V., Lima, M. F., & Simionato, A. V. C.. (2022). Biomarcadores moleculares de doenças humanas: conceitos fundamentais, modelos de estudo e aplicações clínicas. *Química Nova*, 45(9), 1098–1113. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170905>

Zhu, X., Mao, Z., Zheng, P., Wang, L., Zhang, F., Zi, G., Liu, H., Zhang, H., Liu, W., & Zhou, L. (2025). The role and research progress of epigenetic modifications in obstructive sleep apnoea-hypopnea syndrome and related complications. *Respiratory medicine*, 242, 108099. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2025.108099>