

SALIVA COMO BIOMARCADOR ALTERNATIVO PARA MONITORAR A EXPOSIÇÃO AO MERCÚRIO

JULIA M. OUTEIRO¹; MARIA EDUARDA B. KRUGER²; ALINE LUIZA SIMSEN³; LARISSA CRISTINE A. COSTA⁴; PRICILA NASS⁵; MÁRCIA F. MESKO⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – juliamouteiro@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – mariaeduardabragakruger@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – simsen.aline@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – cristine.andradec@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – pricila.nass@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – marciamesko@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

O mercúrio (Hg) é um metal de número atômico 80 reconhecido por sua aparência singular, visto que em temperatura ambiente é líquido e de coloração prateada, sendo considerado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como um dos dez principais produtos químicos de preocupação global para a saúde pública (OMS, 2024). Nos seres humanos, o Hg pode causar diversos efeitos tóxicos, incluindo danos neurológicos, cardiovasculares, renais e hormonais. Além disso, pode ocasionar má-formação fetal, comprometendo funções cognitivas e motoras ao longo da vida, e, em casos mais graves, levar ao óbito (COHEN et al., 2005; KUBICKA-FIGIEL et al., 2024; Ministério da Saúde, 2025).

As vias de exposição ao Hg incluem ingestão de alimentos contaminados, inalação ou absorção cutânea, que ocorrem em decorrência do garimpo (que contamina os rios, o ar e os peixes), processos industriais, produção e processamento de metais primários, incineração de resíduos e na prática odontológica, por meio do uso de amálgamas dentárias, que expõem tanto o profissional quanto o paciente, mesmo nos dias atuais não sendo mais utilizadas, ainda há pessoas que as contém (KUBICKA-FIGIEL et al., 2024; Ye et al., 2016).

Diante dos danos irreversíveis causados pelo Hg, o biomonitoramento em populações vulneráveis torna-se essencial, sendo realizado por meio de biomarcadores que, idealmente, devem ser não invasivos, sensíveis e específicos para as diferentes formas - orgânica (MeHg), inorgânica (Hg^{2+}) e elementar (Hg^0), podendo variar também conforme o tipo de exposição (aguda ou crônica) (BRANCO et al., 2017).

Em casos de exposição aguda, o MeHg pode ser determinado no sangue venoso, podendo ou não corresponder ao Hg total. Já em situações de exposição crônica, a quantificação é realizada em cabelo e unhas; entretanto, há relatos na literatura indicando que esses materiais podem sofrer contaminação externa decorrente de vapores atmosféricos ou de cosméticos aplicados na região (MARTINEZ-MORATA et al., 2023; United States, 1999). Para a avaliação da exposição ao Hg inorgânico ou elementar, os biomarcadores recomendados são a urina e o plasma, que refletem exposições agudas e recentes. Nesses casos, os níveis detectados também podem indicar a presença de Hg orgânico ingerido, o qual foi desmetilado por bactérias no organismo e se encontra em processo de excreção (MARTINEZ-MORATA et al., 2023; United States, 1999).

A saliva tem sido estudada como potencial biomarcador para diversos metais, como chumbo, manganês e bário, principalmente por ser um biomarcador não invasivo, podendo representar a porção circulante ou a eliminada (MARTINEZ-MORATA et al., 2023). Todavia, para Hg há poucos trabalhos na literatura avaliando esta estratégia, e os encontrados referem-se à exposição local,

provenientes de amálgamas dentárias e a coleta é feita através da expectoração, tornando-se métodos morosos e com capacidade apenas de identificar a liberação local do produto odontológico (MARTINEZ-MORATA *et al.*, 2023; ZHENG *et al.*, 2015).

Diante da necessidade de biomonitoramento de Hg e os danos severos que esse elemento tóxico pode causar, este estudo tem como objetivo determinar Hg em saliva, visto que esse biomarcador é não invasivo e de fácil coleta por meio de *swab*. Para a determinação foi investigado o uso de um analisador direto de mercúrio (DMA-80 EVO), que minimiza o preparo de amostra, e possibilita análise rápida quando comparado com outros métodos. As concentrações de Hg em saliva foram correlacionadas com as obtidas por biomarcadores reconhecidos pela OMS, a fim de identificar a espécie de Hg e distinguir exposições agudas de crônicas.

2. METODOLOGIA

Participaram do estudo 2 homens e 10 mulheres, totalizando 12 voluntários que consentiram em ceder 5 mL de sangue venoso, três *swabs* com saliva e uma mecha de cabelo, além de responder a uma anamnese contemplando estilo de vida, ocupação e possíveis exposições ao mercúrio. Todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e o estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Medicina de Pelotas, sob o parecer nº 7.456.643.

Para a coleta das amostras de sangue venoso, foram utilizados dois tipos de tubos: um contendo heparina, destinado à obtenção de plasma, e outro contendo ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), para análise de sangue total. Os tubos com heparina foram centrifugados após a coleta, por 15 minutos, a 3000 rpm, sendo analisados em até 72 horas. Já os tubos contendo sangue total foram analisados em até 24 horas, sem pré-tratamento. As amostras de cabelo foram coletadas próximas à nuca, fragmentadas em partículas menores para homogeneização, lavadas com acetona e enxaguadas com água ultrapura (COSTA JUNIOR *et al.*, 2018; MILESTONE, 2019). A coleta de saliva foi realizada com *swabs* estéreis, em triplicata, esfregando-os no interior das bochechas por aproximadamente 30 segundos. Os voluntários declararam estar em jejum mínimo de 1 hora e 30 minutos, e previamente as coletas realizaram enxague bucal com água ultrapura.

As amostras foram analisadas utilizando um analisador direto de mercúrio (DMA-80 EVO, Milestone, Itália), cuja técnica se baseia na decomposição térmica seguida de amalgamação e espectrometria de absorção atômica (TDA AAS), conforme descrito no método 7473 da EPA (EPA, 2007). O equipamento foi calibrado com concentrações de mercúrio variando de 0 ng a 20 ng, preparado a partir de um padrão de Hg de 1000 mg L⁻¹. Foi empregado o método recomendado pela marca do equipamento para amostras biológicas de interesse clínico. Este método consiste nas etapas de secagem a 200 °C durante 30 segundos, seguido de uma rampa de decomposição que atingiu 650 °C em 90 segundos e se manteve por mais 90 segundos, catalisador a 565 °C e amalgamação a 900 °C durante 12 segundos, utilizando barquetas de quartzo para as amostras líquidas e de níquel para matrizes sólidas (MILESTONE, 2019).

Foram utilizados 100 µL de sangue e plasma, 50 mg de cabelo e uma média de 160 µL de saliva, volume correspondente ao absorvido pelo *swab*, calculado a partir da média de 10 medidas. Com o objetivo de avaliar a exatidão do método, foram realizados ensaios de adição e recuperação, nos quais uma alíquota de padrão analítico foi adicionada a amostra de saliva. Os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) foram determinados a partir da análise de dez brancos.

Para a coleta de sangue venoso, os brancos foram preparados a partir do reagente presente no tubo de coleta. Para a saliva, o branco foi calculado com base nas análises dos *swabs*, e, para o cabelo, os valores dos brancos foram obtidos a partir das barquetas utilizadas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A linearidade foi avaliada pelo coeficiente de correlação, obtendo-se $R^2 = 0,9964$ para a curva da célula 0 (0 ng a 1 ng) e $R^2 = 0,9993$ para a célula 1 (1 ng a 20 ng). Obteve-se recuperações de 90%, o LOD variou de 0,12 a 0,40 $\mu\text{g kg}^{-1}$, e o LOQ 0,18 a 0,56 $\mu\text{g kg}^{-1}$, variando pela massa de amostra utilizada. Todas as amostras foram analisadas em triplicata e nenhuma obteve desvio padrão relativo acima de 10%.

Após otimizado todos os parâmetros do equipamento as amostras foram analisadas, obtendo-se concentrações variadas. Os resultados obtidos para amostras de 12 voluntários estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Concentração de Hg ($\mu\text{g kg}^{-1}$) nos diferentes biomarcadores (média \pm desvio padrão, n = 3).

Voluntário	Sangue total	plasma	Cabelo	Saliva
1	< 0,28*	< 0,18**	85,6 \pm 4,4	< 0,18*
2	< 0,28*	< 0,18**	156,2 \pm 3,2	0,20 \pm 0,01
3	0,76 \pm 0,07	< 0,18**	167,4 \pm 2,6	< 0,12**
4	0,29 \pm 0,01	< 0,18**	278,9 \pm 3,0	0,26 \pm 0,02
5	1,00 \pm 0,14	< 0,18**	n.d.	< 0,18*
6	0,46 \pm 0,02	< 0,18**	166,1 \pm 6,8	0,35 \pm 0,02
7	< 0,18**	< 0,18**	150,3 \pm 3,0	0,69 \pm 0,03
8	< 0,18**	< 0,18**	63,4 \pm 0,3	< 0,18*
9	< 0,28*	< 0,18**	155,9 \pm 1,9	< 0,12**
10	< 0,28*	< 0,18**	378,9 \pm 6,5	< 0,18*
11	< 0,28*	< 0,18**	n.d.	< 0,18*
12	0,32 \pm 0,01	< 0,18**	163,6 \pm 2,3	6,41 \pm 0,63

n.d.: não determinado; *LOQ: Limite de quantificação; **LOD: limite de detecção.

As maiores concentrações de Hg nas amostras de sangue analisadas foram encontradas em indivíduos expostos em nível ocupacional, como profissionais de laboratórios que trabalham na determinação e quantificação deste elemento ou em ambientes hospitalares. Nenhuma amostra de plasma apresentou níveis detectáveis de Hg, o que pode ser atribuído ao fato de que aproximadamente 90% do metal permanece associado às hemácias no sangue total (OMS, 2024). Por outro lado, foram quantificadas concentrações elevadas de Hg em todas as amostras de cabelo, o que pode ser explicado pelos contaminantes externos, como cosméticos e poluentes atmosféricos, visto que o Hg tem alta afinidade pelo enxofre presente na queratina deste biomarcador (MARTINEZ-MORATA et al., 2023).

Foi possível detectar Hg em 83% das amostras de saliva coletadas com *swab*, demonstrando uma boa sensibilidade no método proposto. A maior concentração de Hg na saliva (6,41 $\mu\text{g kg}^{-1}$) foi em um indivíduo portador de seis amálgamas dentárias, enquanto os demais voluntários relataram não possuir esse tipo de restauração. As concentrações salivares não apresentaram, neste estudo, correlação significativa com outros biomarcadores, no entanto, essa limitação pode estar relacionada ao número reduzido de amostras analisadas. Estudos prévios relatam associação relevante entre os níveis de Hg na saliva e no leite materno,

sugerindo que a saliva pode refletir a fração circulante do metal. Assim, a ampliação da amostragem e a comparação com diferentes biomarcadores são necessárias para confirmar o potencial da saliva como matriz de monitoramento da exposição ao Hg (BEHROOZ, 2024).

4. CONCLUSÕES

Foi possível quantificar mercúrio na maioria das amostras de saliva, o que evidencia a eficiência do método proposto. Além disso, a coleta por meio da absorção em *swab* mostrou-se prática e de fácil aplicação. A saliva, já é utilizada como biomarcador para outros metais e no monitoramento de contaminações em populações vulneráveis, apresentando grande potencial também para a determinação de mercúrio. Observou-se a presença do metal mesmo em voluntários sem amálgamas dentárias, sugerindo exposição ambiental ou ocupacional. No entanto, são necessários estudos adicionais para avaliar se essa exposição possui caráter crônico ou agudo, e identificar a forma química do mercúrio presente (elementar, inorgânica ou orgânica).

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRANCO, V.; CAITO, S.; FARINA, M.; TEIXEIRA, J.; ASCHNER, M.; CARVALHO, C. Biomarkers of mercury toxicity: Past, present, and future trends. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, v.20, n.3, p.119-154, 2017.
- BEHROOZ, R. D. et al. Mercury in saliva, milk, and hair of nursing mothers in southeastern Iranian mothers: levels, distribution and risk assessment. **Environ Geochem Health**, v. 46, p. 521, 2024.
- COHEN J.; BELLINGER D.C.; SHAYWITZ B. A quantitative analysis of prenatal methyl mercury exposure and cognitive development. **American Journal of Preventive Medicine**, v.29, n.4, p.353-365, 2005.
- COSTA JUNIOR, J. M. F. et al. Levels of mercury found in hair and fish consumption of riverine communities in the Tapajós region of the Brazilian Amazon. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 23, n.3, p.805-812, 2018.
- KUBICKA-FIGIEL, M.; MARTYKA, A.; TABORSKA, N. Thyroid Response to Mercury: Varied Effects on Function and Structure - A Review of the Latest Research. **Journal of Education, Health and Sport**, v.60, p.161-174, 2024.
- MARTINEZ-MORATA I.; SOBEL M.; TELLEZ-PLAZA M.; NAVAS-ACIEN A, HOWE CG, SANCHEZ TR. A State-of-the-Science Review on Metal Biomarkers. **Current Environmental Health Reports**, v.20, p.215-249, 2023.
- MILESTONE. **The determination of total mercury in clinical matrices utilizing direct analysis for mercury detection in blood, hair and urine samples**. Itália, Milestone, 2019. (Industry Report USREV 062119).
- U.S. Environmental Protection Agency (EPA). Method 7473: **Mercury in Solids and Solutions by Thermal Decomposition, Amalgamation, and Atomic Absorption Spectrophotometry**. Washington, DC: U.S. EPA, 2007.
- United States. Department of Health and Human Services. **Toxicological Profile for Mercury**. Atlanta: Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1999. Disponível em: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxguides/toxguide-46.pdf>. Acesso em: 31 jul. 2025.
- World Health Organization (WHO). **Mercury and health**. 2023. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/mercury-and-health>. Acesso em: 31 jul. 2025.
- ZHENG, P. et al. A gold nanohole array based surface-enhanced Raman scattering biosensor for detection of silver (I) and mercury (II) in human saliva. **Nanoscale**, v.7, p.11005-11012, 2015.
- YE B.J. et al. Evaluation of mercury exposure level, clinical diagnosis and treatment for mercury intoxication. **Annals of occupational and environmental medicine**, vol. 28, p.5-22, 2016.