



Brazilian Journal of OTORHINOLARYNGOLOGY

www.bjorl.org



ARTIGO ORIGINAL

Eficácia da quimioluminescência no diagnóstico e rastreamento de câncer oral e pré-câncer: uma revisão sistemática e metanálise[☆]

Do Hyun Kim ^a, Jaeyoon Lee ^a, Min Hyeong Lee ^a, Sung Won Kim ^a
e Se Hwan Hwang ^{b,*}

^a The Catholic University of Korea, College of Medicine, Seoul St. Mary's Hospital, Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, Seoul, Coréia

^b The Catholic University of Korea, College of Medicine, Bucheon St. Mary's Hospital, Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, Seoul, Coréia

Recebido em 14 de maio de 2020; aceito em 24 de junho de 2020

PALAVRAS-CHAVE

Neoplasias orais;
Quimioluminescência;
Condições
pré-cancerosas;
Cloreto de tolônio

Resumo

Introdução: A detecção precoce de distúrbios orais potencialmente malignos é fundamental para um bom prognóstico e não está claro se o uso da quimioluminescência como método auxiliar de triagem diagnóstica melhora a eficácia do diagnóstico.

Objetivo: Avaliar a precisão da quimioluminescência para o diagnóstico de câncer oral e pré-câncer.

Método: Foram revisados 16 estudos prospectivos e retrospectivos dos bancos de dados PubMed, Cochrane, Scopus, Web of Science, Embase e Google Scholar. Os distúrbios da mucosa oral detectados por quimioluminescência foram comparados com os distúrbios da mucosa oral detectados pelo azul de toluidina ou pelo exame visual. Taxas de resultados verdadeiro-positivos, verdadeiro-negativos, falso-positivos e falso-negativos foram extraídas de cada estudo. A qualidade metodológica foi avaliada com a ferramenta *Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies*-versão 2 (QUADAS-2).

Resultados: Sensibilidade, especificidade, valor preditivo negativo e *odds ratio* diagnóstico do uso do azul de toluidina foram 0,832 (intervalo de confiança de 95%: 0,692–0,917), 0,429 (IC95%: 0,217–0,672), 0,747 (IC95%: 0,607–0,849) e 4,061 (intervalo de confiança 95%: 1,528–10,796; $I^2 = 9,128\%$), respectivamente. A área sob a curva SROC, do inglês *summary receiver operating characteristic*, foi de 0,743. Comparada ao azul de toluidina, como usado em 12 estudos,

DOI se refere ao artigo: <https://doi.org/10.1016/j.bjorl.2020.06.011>

[☆] Como citar este artigo: Kim DH, Lee J, Lee MH, Kim SW, Hwang SH. Efficacy of chemiluminescence in the diagnosis and screening of oral cancer and precancer: a systematic review and meta-analysis. Braz J Otorhinolaryngol. 2022;88:358–64.

* Autor para correspondência.

E-mail: yellobird@catholic.ac.kr (S.H. Hwang).

A revisão por pares é da responsabilidade da Associação Brasileira de Otorrinolaringologia e Cirurgia Cérvico-Facial.

a quimioluminescência apresentou uma sensibilidade mais alta (0,831 vs. 0,694) e especificidade (0,415 vs. 0,734), valor preditivo negativo (0,674 vs. 0,729) e *odds ratio* diagnóstico (3,889 vs. 7,705) mais baixos. Comparado com o exame clínico, como usado em três estudos, a quimioluminescência apresentou menor *odds ratio* diagnóstico (4,576 vs. 5,499) e área sob a curva (0,818 vs. 0,91).

Conclusão: Embora a quimioluminescência em si tenha boa sensibilidade para o diagnóstico de câncer oral e pré-câncer, sua precisão diagnóstica é comparável ou pior do que o azul de toluidina e o exame clínico. A precisão do diagnóstico foi, portanto, insuficiente para o uso isolado confiável da quimioluminescência.

© 2020 Associação Brasileira de Otorrinolaringologia e Cirurgia Cérvico-Facial. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Introdução

O câncer oral é um problema de saúde global, com crescentes taxas de incidência e mortalidade. No mundo todo, estima-se que aproximadamente 300.000 pessoas tenham câncer oral.¹ A progressão dos carcinomas epidermóides orais a partir de lesões orais potencialmente malignas (DOPM) está bem estabelecida.¹ A detecção precoce de DOPM é fundamental para um bom prognóstico, mas o médico deve ter a capacidade de distinguir essas lesões das condições reativas e inflamatórias.² Como as DOPM podem ser assintomáticas e ter uma aparência clínica benigna, pode ser difícil distinguir os distúrbios reativos ou inflamatórios (benignos) da mucosa oral.³ Portanto, atualmente vários testes diagnósticos auxiliares estão disponíveis, que facilitam a visualização de câncer oral e a detecção de DOPM.³ Entre esses, testes baseados em óptica, como quimioluminescência, têm sido usados para distinguir lesões pré-malignas ou malignas do estado da mucosa.⁴ O ViziLite, que se baseia no princípio da iluminação quimioluminescente, é uma ferramenta diagnóstica recentemente introduzida para a triagem do câncer oral inicial.⁵ O comprimento de onda específico usado no ViziLite é absorvido pelas células normais e refletido pelas células anormais, devido à sua razão citoplasma/núcleo. Portanto, anormalidades atípicas da mucosa têm aparência branca brilhante.⁶ Entretanto, não está claro se o uso de métodos de rastreamento diagnóstico complementar melhora a eficácia do diagnóstico.^{4,7}

Na presente revisão sistemática e metanálise, analisamos a eficácia da quimioluminescência no diagnóstico e triagem de câncer oral e pré-câncer. Fizemos uma metanálise bivariada, que incluiu a comparação com o uso do azul de toluidina, e avaliamos a eficácia dos dois métodos para identificação de pacientes de alto risco.

Método

Considerações éticas

Este estudo de revisão não tratou participantes humanos. Portanto, nosso conselho de revisão institucional dispensou a necessidade de consentimento informado para esta revisão sistemática e metanálise.

Busca na literatura

Os estudos clínicos foram recuperados dos bancos de dados PubMed, Cochrane, Scopus, Web of Science, Embase e Google Scholar. O período de pesquisa foi desde a data de criação do banco de dados até o início de abril de 2020. Os termos de busca foram: *chemiluminescence*, *dysplasia*, *oral precancer*, *oral cancer*, *oral carcinoma* e *tolonium chloride*. Apenas artigos escritos em inglês foram revisados. As listas de referência dos artigos recuperados foram revisadas para garantir que nenhum estudo relevante fosse omitido. Todos os resumos e títulos dos estudos candidatos foram revisados por dois revisores independentes. Estudos que não abordaram a quimioluminescência no contexto do câncer oral foram excluídos.

Critérios de seleção

Os critérios de inclusão foram: 1) uso de quimioluminescência; 2) protocolo de estudo prospectivo ou retrospectivo; 3) comparação da quimioluminescência com o uso de azul de toluidina ou exame clínico; e 4) análises de sensibilidade e especificidade, bem como dados referentes à concordância interavaliadores. Os critérios de exclusão foram: 1) relatos de caso; 2) artigos de revisão; 3) diagnóstico de outros tumores (câncer de laringe ou tumores da cavidade nasal); e 4) falta de dados de quimioluminescência diagnóstica. A estratégia de busca está resumida na [figura 1](#).

Extração de dados e avaliação de risco de viés

Formulários padronizados foram usados para coletar todos os dados. A precisão do diagnóstico (isto é, o *odds ratio* do diagnóstico [DOR]),^{3–18} curva SROC (*summary receiver operating characteristic*) e áreas sob a curva (AUCs) foram analisadas. O desempenho diagnóstico da quimioluminescência foi comparado com o desempenho do azul de toluidina (AT)^{4–6,9,11–18} ou exame clínico.^{7,9,12}

Os DORs foram calculados como (verdadeiros positivos/falsos positivos)/ (falsos negativos/verdadeiros negativos) com intervalos de confiança de 95% (IC95%), com modelos de efeitos aleatórios que consideraram a variação dentro e entre os estudos. Os valores de DOR variaram de 0 a infinito, valores mais altos indicaram melhor desempe-

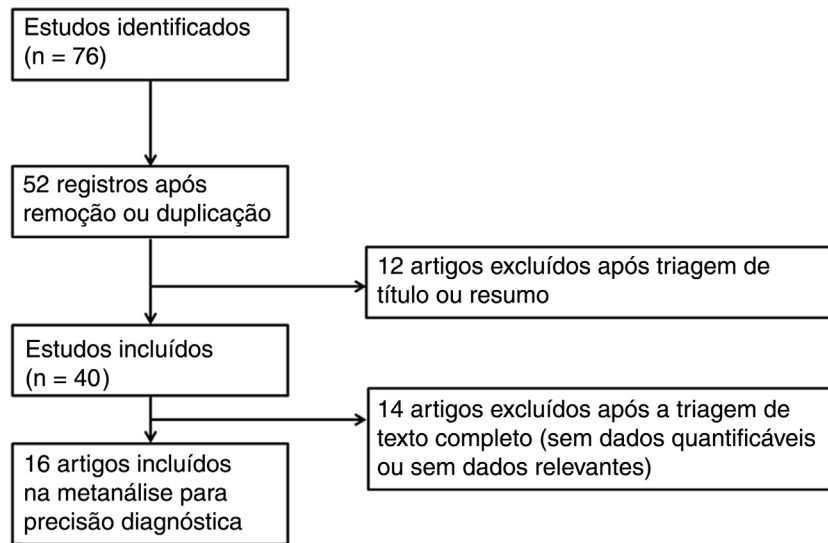


Figura 1 Resumo da estratégia de pesquisa.

no diagnóstico. Um valor igual a 1 indicou que não era possível inferir a presença ou ausência da doença. O logaritmo de cada DOR foi calculado para obter uma distribuição aproximadamente normal. A abordagem SROC foi usada na metanálise de estudos que relataram sensibilidade e especificidade. À medida que o poder discriminatório de um teste aumentava, a curva SROC se movia em direção ao canto superior esquerdo do espaço ROC (*receiver operating characteristic*), isto é, em direção ao ponto em que sensibilidade e especificidade eram iguais a 1 [100%]. A AUC variou de 0 a 1, valores mais altos indicaram melhor desempenho. Em todos os estudos, foram coletados dados sobre o número de pacientes, bem como os valores verdadeiros positivos, verdadeiros negativos, falsos positivos e falsos negativos; esses foram usados para calcular as AUCs e DORs. A qualidade dos estudos foi analisada com a ferramenta *Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies* (version 2; QUADAS-2).

Análise estatística e medidas de desfechos

O *software* estatístico R (R Foundation for Statistical Computing, Viena, Áustria) foi usado para fazer as metanálises. As análises de homogeneidade foram então feitas com os valores estatísticos Q. Para facilitar a interpretação dos resultados, foram criados gráficos do tipo *Forest plot* para os valores de sensibilidade, especificidade e valores preditivos negativos, bem como as curvas SROC.

Resultados

Foram incluídos nesta metanálise 16 estudos, com 998 participantes. A avaliação do viés é mostrada na [tabela 1](#) e as características dos estudos são mostradas na [tabela suplementar 1](#).

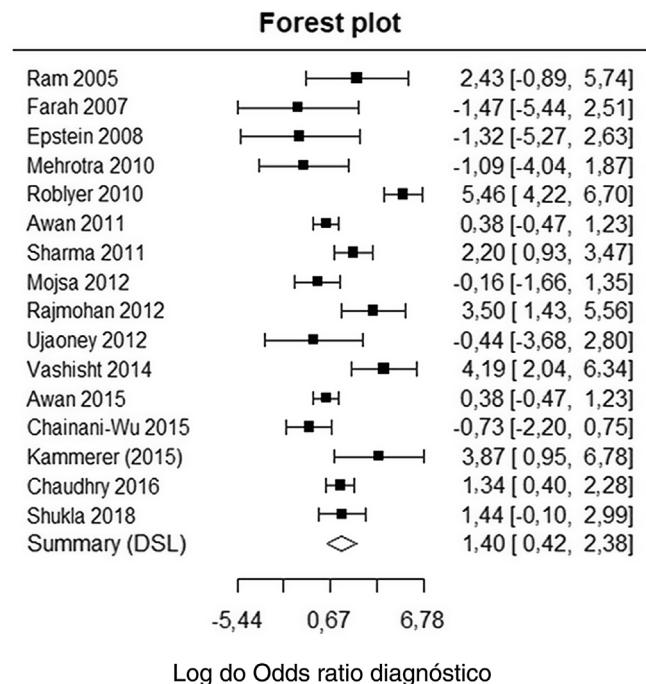


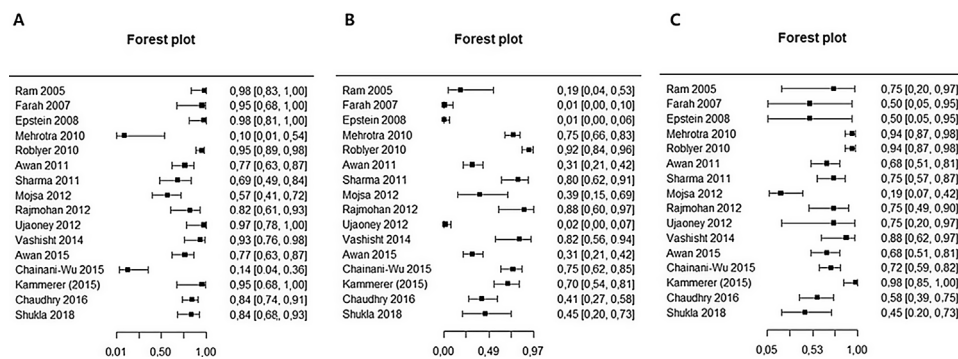
Figura 2 Gráfico do tipo *Forest plot* dos *odds ratios* diagnósticos dos estudos incluídos.

Precisão diagnóstica da quimioluminescência

Esta análise revisou 16 estudos prospectivos e retrospectivos. O DOR da quimioluminescência foi de 4,061 (IC 95% 1,528-10,796; $I^2 = 9,128\%$) e o logDOR foi de 1,401 (0,424-2,379) ([fig. 2](#)). A área sob a SROC foi de 0,743. Os valores de sensibilidade, especificidade e preditivos negativos foram 0,849 (0,692-0,917), 0,429 (0,217-0,672) e 0,747 (0,607-0,849), respectivamente ([fig. 3](#)). A correlação entre a sensibilidade e taxa de falsos positivos foi de 0,375, o que indicou ausência de heterogeneidade. A área sob a SROC foi

Tabela 1 Qualidade metodológica de todos os estudos incluídos

Referência	Risco de viés				Preocupações com a aplicação		
	Seleção de pacientes	Teste Índice	Padrão de referência	Fluxo e tempo	Seleção de pacientes	Teste Índice	Padrão de referência
Ram (2005)	Incerto	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo
Farah (2007)	Incerto	Baixo	Incerto	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo
Epstein (2008)	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo
Mehrotra (2010)	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo
Roblyer (2010)	Baixo	Baixo	Incerto	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo
Awan (2012)	Baixo	Baixo	Incerto	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo
Sharma (2011)	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo
Mojas (2012)	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo
Rajmohan (2012)	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo
Ujaoney (2012)	Incerto	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo
Vashisht (2014)	Incerto	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo
Kammerer (2015)	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo
Awan (2015)	Incerto	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo
Chainani-Wu (2015)	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo
Chaudhry (2016)	Baixo	Baixo	Unclear	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo
Shukla (2018)	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo

**Figura 3** Gráficos do tipo *Forest plot* da sensibilidade, especificidade e valores preditivos negativos dos estudos incluídos.

de 0,70 a 0,80, sugeriu uma precisão diagnóstica moderada (fig. 4).

Comparação da quimioluminescência com azul de toluidina e exame clínico

Comparada com o azul de toluidina, como usado em 12 estudos, a quimioluminescência apresentou uma sensibilidade mais alta (0,831 vs. 0,694) e mostrou especificidade (0,415 vs. 0,734), valor preditivo negativo (0,674 vs. 0,729) e DOR (3,889 vs. 7,705) mais baixos (tabela 2). Em comparação com o exame clínico, como usado em três estudos, a quimioluminescência apresentou sensibilidade (0,896 vs. 0,960), especificidade (0,301 vs. 0,132) e valor preditivo negativo (0,565 vs. 0,733) semelhantes; apresentou menor DOR (4,576 vs. 5,499) e AUC (0,818 vs. 0,91) (tabela 3). Esses resultados indicam que a quimioluminescência tem poder diagnóstico semelhante ao do exame clínico isolado. Além disso, as metodologias que usam quimioluminescência e azul de toluidina tenderam a ser complementares, dados

os padrões recíprocos de sensibilidade e especificidade dos dois testes.

Discussão

Uma revisão sistemática feita em 2016 por Nagi et al.¹⁹ avaliou as capacidades dos sistemas de detecção baseados em luz (por exemplo, ViziLite) para detectar câncer e lesões pré-cancerígenas. Os tamanhos das amostras dos estudos incluídos variou entre 30 e 126 pacientes (média de 67 pacientes por estudo). A sensibilidade relatada do ViziLite para a detecção de câncer e lesões pré-cancerígenas variou de 7,1% a 100%; a especificidade variou de 0% a 27,8%.¹⁹ Os autores concluíram que os dispositivos baseados em quimioluminescência são ferramentas de triagem simples e não invasivas para a avaliação da mucosa oral, embora essas técnicas apresentem capacidade limitada para identificar lesões de alto risco.

Entretanto, houve alguns problemas com os métodos usados na análise anterior. A revisão narrativa de Nagi et al.¹⁹ foi baseada em resultados de estudos individuais,

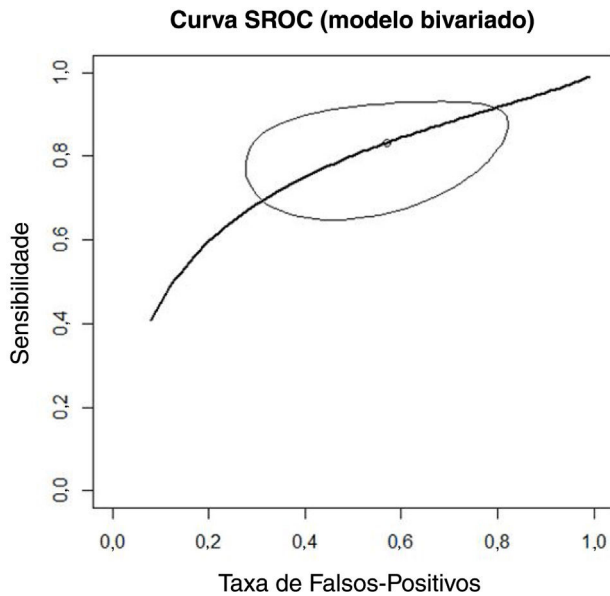


Figura 4 Área sob a curva SROC (*Summary Receiver Operating Characteristic*) dos estudos incluídos.

em vez de uma abordagem de metanálise. O efeito geral da quimioluminescência na precisão diagnóstica não pode ser avaliado com métodos descritivos, embora os resultados de estudos individuais tenham sido fornecidos em detalhes. Além disso, desde a publicação dessa revisão, oito estudos adicionais foram publicados. No presente estudo, fizemos uma metanálise de todos os estudos apropriados publicados até o momento. O azul de toluidina é a ferramenta adjuvante mais frequentemente usada na avaliação de distúrbios neoplásicos da mucosa oral;³ além disso, o exame visual convencional e a avaliação tátil de toda a cavidade oral permanecem como o padrão-ouro para a identificação de lesões da mucosa oral.⁹ Nossa metanálise

bivariada incluiu comparações detalhadas da quimioluminescência com outras ferramentas diagnósticas.

Em nosso estudo, a quimioluminescência demonstrou uma sensibilidade combinada de 0,849, especificidade combinada de 0,429, valor preditivo negativo combinado de 0,747 e AUC de 0,743. A área sob a curva SROC estava na faixa de 0,70 a 0,80, o que sugeriu uma precisão diagnóstica moderada. Na comparação direta da quimioluminescência com o azul de toluidina, a diferença na sensibilidade foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$). Esses resultados indicaram que, em um paciente com lesão neoplásica óbvia, não há diferença entre quimioluminescência e azul de toluidina; no entanto, quando a triagem por azul de toluidina gera achados negativos de neoplasia, a quimioluminescência é mais sensível para a identificação de lesões suspeitas. A alta sensibilidade da iluminação quimioluminescente pode ser atribuída ao aumento do brilho e clareza das lesões orais, o que aumenta a probabilidade de identificar uma lesão que pode passar despercebida em um exame-padrão feito por clínicos gerais.⁹ Assim, a quimioluminescência seria mais eficaz do que o azul de toluidina na identificação de lesões não sintomáticas e clinicamente obscuras.⁵

Entretanto, a quimioluminescência exibiu especificidade significativamente menor em comparação ao azul de toluidina. Esse resultado indica que a quimioluminescência pode ser inespecífica; além disso, diferentemente do azul de toluidina, a quimioluminescência não identifica os locais de biópsia.⁵ Um estudo anterior de Ram e Siar⁵ revelou que os testes de quimioluminescência não conseguem distinguir entre doença benigna da mucosa oral, doença inflamatória, potencialmente maligna e maligna.⁵ Devido à baixa especificidade, as misturas quimioluminescentes incluem uma pré-lavagem com ácido acético para remover as camadas de detritos e glicoproteínas, aumentam assim a penetração e a reflexão da luz. No entanto, sabe-se que o ácido acético causa desidratação celular e coagulação de proteínas, o que reduz a transparência epitelial. Essa redução da transparência pode causar a aparência acetobranca das lesões de cor

Tabela 2 Quimioluminescência e azul de toluidina: dados agrupados e comparação com base em 12 estudos

	Quimioluminescência	Azul de toluidina	p-valor
Sensibilidade	0,831 (0,668; 0,923)	0,694 (0,562; 0,800)	$p < 0,0001$
Especificidade	0,415 (0,195; 0,674)	0,734 (0,588; 0,842)	$p < 0,0001$
Valor preditivo negativo	0,674 (0,533; 0,789)	0,729 (0,496; 0,881)	$p < 0,0001$
DOR	3,891 (1,639; 9,240)	7,705 (3,486; 17,030)	$p < 0,0001$
AUC	0,727 (EP = 0,028)	0,77 (EP = 0,0263)	$p = 0,1851$

DOR, *odds ratio* diagnóstico; AUC, área sob a curva; EP, erro-padrão.

Tabela 3 Quimioluminescência e azul de toluidina: dados agrupados e comparação com base em três estudos

	Quimioluminescência	Exame Clínico	p-valor
Sensibilidade	0,896 (0,503; 0,987)	0,960 (0,850; 0,990)	$p = 0,1707$
Especificidade	0,301 (0,006; 0,497)	0,132 (0,003; 0,85)	$p = 0,2797$
Valor preditivo negativo	0,565 (0,066; 0,960)	0,733 (0,409; 0,916)	$p = 0,8228$
DOR	4,576 (0,049; 426,789)	5,499 (0,235; 128,544)	$p < 0,0001$
AUC	0,818 (EP = 0,0284)	0,91 (EP = 0,0197)	$p = 0,0081$

DOR, *odds ratio* diagnóstico; AUC, área sob a curva; EP, erro-padrão.

branca.¹⁹ Além disso, o uso de uma pré-lavagem com ácido acético estimula a secreção da glândula salivar. Isso resulta em refletividade significativa da superfície da mucosa, dificultando a identificação dos limites da lesão.⁴ Nossas análises indicaram que a confiança nos métodos diagnósticos por quimioluminescência pode resultar em muitos procedimentos desnecessários de biópsia ou contribuir para altas taxas de referência e excesso de tratamento.⁸

As ferramentas clínicas podem ajudar a visualizar lesões orais suspeitas que não podem ser facilmente identificadas em exames orais convencionais.¹² No entanto, a triagem por quimioluminescência fornece precisão diagnóstica (sensibilidade e especificidade) semelhante à do exame clínico.¹² A incapacidade de detectar algumas lesões de cor vermelha pode explicar parcialmente a ausência de um efeito benéfico da quimioluminescência, em comparação com o exame clínico. Além disso, a triagem por quimioluminescência envolve várias limitações, como a necessidade de um ambiente escuro, alto custo, ausência de registro permanente (exceto por fotografias) e incapacidade de medir objetivamente os resultados da visualização. Essa visualização complementar fornece apenas informações sobre a largura da lesão. Notavelmente, a profundidade da lesão, que é o aspecto mais importante para prever o comportamento maligno, não pode ser avaliada com quimioluminescência.⁸ Os resultados do presente estudo também sugerem que a triagem por quimioluminescência não pode auxiliar na identificação de lesões malignas e potencialmente malignas na mucosa oral.

Esta análise teve várias limitações. Primeiro, incluiu apenas 16 estudos: oito da Índia e oito da Europa e América (combinados). Embora nosso estudo tenha demonstrado uma prevalência desigual de câncer oral (devido às altas taxas de câncer oral na Índia e no Paquistão),²⁰ bem como uma prevalência desigual de suas características gerais e padrões de diagnóstico, o risco de viés associado à inclusão de um grande número de estudos de um único país foi baixo. Segundo, os dados combinados de sensibilidade e especificidade foram derivados principalmente de análises por paciente. Como os pacientes podem ser submetidos a várias biópsias de lesões suspeitas, as análises por lesão podem ser mais precisas para o diagnóstico. Entretanto, sete dos 16 estudos envolveram apenas análises por paciente.^{7-9,12,13,15,16} Portanto, estudos que usem controles rigorosos e procedimentos diagnósticos padronizados e experimentais são necessários para assegurar a utilidade diagnóstica da quimioluminescência em pacientes com câncer oral.

Conclusão

Embora a quimioluminescência em si tenha boa sensibilidade para o diagnóstico de câncer oral e pré-câncer, a precisão diagnóstica da quimioluminescência é comparável ou pior do que a do azul de toluidina e o exame clínico. Portanto, os resultados desta metanálise indicam que não há benefício adicional a ser obtido da triagem por quimioluminescência versus testes de triagem convencionais que utilizam luz incidente padrão.

Financiamento

Esta pesquisa recebeu apoio do Programa de Pesquisa em Ciências Básicas da *National Research Foundation of Korea* (NRF) financiada pelo Ministério da Educação (2018R1D1A1B07045421), do Programa de Desenvolvimento de Tecnologia Biológica e Médica da NRF, financiado pelo Ministério da Ciência e TIC (2018M3A9E8020856, 2019M3A9H2032424, 2019M3E5D5064110), e do *Institute of Clinical Medicine Research of Bucheon St. Mary's Hospital, Research Fund* (2017, 2018). Esta pesquisa também recebeu apoio através de uma concessão da *E.N.T. Fund of the Catholic University of Korea* (anos do programa 2017-2018). Os patrocinadores não desempenharam qualquer papel no desenho do estudo, coleta e análise de dados, decisão de publicação ou preparação do manuscrito.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Apêndice A. Material adicional

Pode consultar o material adicional para este artigo na sua versão eletrônica disponível em [doi:10.1016/j.bjorlp.2022.03.015](https://doi.org/10.1016/j.bjorlp.2022.03.015).

Referências

1. Rahman F, Tippu SR, Khandelwal S, Girish KL, Manjunath BC, Bhargava A. A study to evaluate the efficacy of toluidine blue and cytology in detecting oral cancer and dysplastic lesions. *Quintessence Int.* 2012;43:51–9.
2. Zhang L, Williams M, Poh CF, Laronde D, Epstein JB, Durham S, et al. Toluidine blue staining identifies high-risk primary oral premalignant lesions with poor outcome. *Cancer Res.* 2005;65:8017–21.
3. Awan K, Yang Y, Morgan P, Warnakulasuriya S. Utility of toluidine blue as a diagnostic adjunct in the detection of potentially malignant disorders of the oral cavity - a clinical and histological assessment. *Oral Dis.* 2012;18:728–33.
4. Awan KH, Morgan PR, Warnakulasuriya S. Assessing the accuracy of autofluorescence, chemiluminescence and toluidine blue as diagnostic tools for oral potentially malignant disorders - a clinicopathological evaluation. *Clin Oral Investig.* 2015;19:2267–72.
5. Ram S, Siar CH. Chemiluminescence as a diagnostic aid in the detection of oral cancer and potentially malignant epithelial lesions. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2005;34:521–7.
6. Rajmohan M, Rao UK, Joshua E, Rajasekaran ST, Kannan R. Assessment of oral mucosa in normal, precancer and cancer using chemiluminescent illumination, toluidine blue supravital staining and oral exfoliative cytology. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2012;16:325–9.
7. Roblyer D, Kurachi C, Stepanek V, Schwarz RA, Williams MD, El-Naggar AK, et al. Comparison of multispectral wide-field optical imaging modalities to maximize image contrast for objective discrimination of oral neoplasia. *J Biomed Opt.* 2010;15:066017.
8. Farah CS, McCullough MJ. A pilot case control study on the efficacy of acetic acid wash and chemiluminescent illumination (ViziLite) in the visualisation of oral mucosal white lesions. *Oral Oncol.* 2007;43:820–4.
9. Epstein JB, Silverman S Jr, Epstein JD, Lonky SA, Bride MA. Analysis of oral lesion biopsies identified and evaluated by

- visual examination, chemiluminescence and toluidine blue. *Oral Oncol.* 2008;44:538–44.
10. Mehrotra R, Singh M, Thomas S, Nair P, Pandya S, Nigam NS, et al. A cross-sectional study evaluating chemiluminescence and autofluorescence in the detection of clinically innocuous precancerous and cancerous oral lesions. *J Am Dent Assoc.* 2010;141:151–6.
 11. Sharma N, Mubeen. Non -invasive diagnostic tools in early detection of oral epithelial dysplasia. *J Clin Exp Dent.* 2011;3:e184–8.
 12. Mojsa I, Kaczmarzyk T, Zaleska M, Stypulkowska J, Zapala-Pospiech A, Sadecki D. Value of the ViziLite Plus System as a diagnostic aid in the early detection of oral cancer/premalignant epithelial lesions. *J Craniofac Surg.* 2012;23:e162–4.
 13. Ujaoney S, Motwani MB, Degwekar S, Wadhwan V, Zade P, Chaudhary M, et al. Evaluation of chemiluminescence, toluidine blue and histopathology for detection of high risk oral precancerous lesions: A cross-sectional study. *BMC Clin Pathol.* 2012;12:6.
 14. Vashisht N, Ravikiran A, Samatha Y, Rao PC, Naik R, Vashisht D. Chemiluminescence and Toluidine Blue as Diagnostic Tools for Detecting Early Stages of Oral Cancer: An invivo Study. *J Clin Diagn Res.* 2014;8:Zc35–8.
 15. Chainani-Wu N, Madden E, Cox D, Sroussi H, Epstein J, Silverman S Jr. Toluidine blue aids in detection of dysplasia and carcinoma in suspicious oral lesions. *Oral Dis.* 2015;21:879–85.
 16. Kammerer PW, Rahimi-Nedjat RK, Ziebart T, Bensch A, Walter C, Al-Nawas B, et al. A chemiluminescent light system in combination with toluidine blue to assess suspicious oral lesions-clinical evaluation and review of the literature. *Clin Oral Investig.* 2015;19:459–66.
 17. Chaudhry A, Manjunath M, Ashwatappa D, Krishna S, Krishna AG. Comparison of chemiluminescence and toluidine blue in the diagnosis of dysplasia in leukoplakia: a cross-sectional study. *J Investig Clin Dent.* 2016;7:132–40.
 18. Shukla A, Singh NN, Adsul S, Kumar S, Shukla D, Sood A. Comparative efficacy of chemiluminescence and toluidine blue in the detection of potentially malignant and malignant disorders of the oral cavity. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2018;22:442.
 19. Nagi R, Reddy-Kantharaj YB, Rakesh N, Janardhan-Reddy S, Sahu S. Efficacy of light-based detection systems for early detection of oral cancer and oral potentially malignant disorders: Systematic review. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2016;21:e447–55.
 20. Junaid M, Suhail A, Umer B, Nawaz A, Ikram M, Sobani ZU, et al. Toluidine blue: yet another low-cost method for screening oral cavity tumour margins in third world countries. *J Pak Med Assoc.* 2013;63:835–7.