

Cuadernos de la Escuela de Salud Pública

VOLUMEN 9 NÚMERO 98 AÑO 2021

ISSN: 0798-0388. Depósito Legal pp. 196502 df 714

Fundada en Agosto de 1965

http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_edsp/



Test de saliva y su aplicación en la detección temprana del SARS-CoV-2

Brito Mendoza Luisana Magister en Patología Bucal, Candidata al Doctorado en Salud Pública Universidad Central de Venezuela. <https://orcid.org/0000-0003-4873-4225>

García Guevara Henry. Cirujano Bucomaxilofacial, Candidato al Doctorado en Salud Pública de la Universidad Central de Venezuela. <https://orcid.org/0000-0002-1840-7568>

Viamonte González María Daniela. Cirujano Bucomaxilofacial, Candidata al Doctorado en Salud Pública de la Universidad Central de Venezuela. <https://orcid.org/0009-0009-7563-7026>

Introducción: El COVID-19 en una condición médica de importancia. El diagnóstico temprano de esta enfermedad, podría jugar un rol de importancia en cortar la cadena de transmisión de esta condición. Desde el inicio de la pandemia el Gold Estándar de diagnóstico es el hisopado nasofaríngeo. Sin embargo, hay estudios que consideran que la detección del SARS-CoV-2 mediante el uso de la saliva es una herramienta posible en el diagnóstico temprano del COVID-19, aspecto que

Objetivo: Realizar una revisión bibliográfica acerca del uso de la saliva como método temprano de diagnóstico del SARS-CoV-2 y su impacto en la salud pública.

Discusión: Desde que inició la pandemia en marzo de 2020, se ha implementado el diagnóstico del SARS-CoV-2 a través de la prueba del hisopado nasofaríngeo, haciendo énfasis en que la aplicación temprana de ésta prueba permitiría cortar la cadena de transmisión. De igual forma, desde este momento diferentes estudios han intentado asociar la presencia del virus en saliva y la posible detección de ésta condición a través de la mucosa bucal, considerando que ésta opción pudiera ser más accesible que las empleadas a través de la nasofaringe.

Conclusión: Los estudios recientes demuestran que la saliva es un método de detección de diferentes patologías entre ellas el virus que da origen al COVID-19, tomando en cuenta que la mucosa bucal puede ser un sitio de infección y replicación del SARS-CoV-2, así como de otras condiciones que pueden afectar sistémicamente a los pacientes

1 Introducción

El COVID-19, es causado por el virus SARS-CoV-2, una enfermedad grave y potencialmente mortal. Actualmente a nivel mundial, para el mes de noviembre de 2022, se han notificado a la OMS

627,573,579 casos confirmados de COVID-19, incluidas 6,570,363 muertes (1). El diagnóstico temprano y el aislamiento de las personas infectadas jugarán un papel vital para detener la escalada de la pandemia (2).

En otro aspecto, actualmente el hisopado nasofaríngeo, seguido de la transcripción inversa del ARN extraído y la PCR cuantitativa (RT-qPCR), constituyen el estándar para la detección de la infección por SARS-CoV-2 (3). Actualmente, la recolección de muestras requiere personal médico capacitado (3), lo que expone al personal a un alto riesgo de infección (4). Estas pruebas no siempre tienen éxito en el primer intento, y con frecuencia se informa escasez de hisopos y equipo de protección (2). Además, las pruebas masivas requieren un mayor número de personal capacitado en los sitios de adquisición de muestras. En consecuencia, el método de recolección de hisopos nasofaríngeos (HNS) está causando una carga económica y logística en los sistemas de atención médica. Además, el hisopado nasofaríngeo causa molestias a los pacientes (5) y existen varias contraindicaciones, como la coagulopatía o la terapia anticoagulante y la desviación significativa del tabique nasal (6). Claramente, existe la necesidad de un método más simple y menos invasivo que también reduzca el riesgo para el personal de atención médica.

De igual forma, en la actualidad existen variantes que parecen presentar mayor sensibilidad a pruebas realizadas en saliva a diferencia de las que se han empleado de forma usual desde el inicio de la pandemia (7).

Al respecto, pareciera que variantes como la Omicron, variante que en particular presenta al menos 50 mutaciones de la variante inicial, pudieran ser más sensibles a la detección mediante el uso de la saliva a diferencia del hisopado nasofaríngeo común (7).

Un candidato para la recolección de muestras no invasiva es la saliva. La saliva secretada por las glándulas salivales contiene agua, electrolitos, moco y proteínas digestivas y protectoras (8–10). Pero toda la saliva recolectada de la boca es una mezcla de secreciones glandulares, líquido crevicular gingival, suero, líquido y mucosidad de la superficie de las vías respiratorias expectoradas, células epiteliales e inmunitarias de la mucosa oral y las vías respiratorias superiores, y microbios y virus orales (11). A pesar de

sus orígenes heterogéneos, este fluido mixto se usa ampliamente y con éxito como herramienta de diagnóstico para identificar diversas afecciones orales y sistémicas (9, 12). Estos ya incluyen infecciones virales como el dengue, el virus del Nilo Occidental, el chikungunya, el ébola, el zika y la fiebre amarilla, y también los coronavirus de reciente aparición responsables del síndrome respiratorio agudo severo (SARS) y el síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS) (13).

Desde principios de enero de 2020, se han publicado varios artículos sobre el posible uso de la saliva como muestra para la detección del SARS-CoV-2 en el diagnóstico de la COVID-19. Nuestro objetivo, por lo tanto, es realizar una revisión bibliográfica exhaustiva de la posibilidad de realizar la detección de ésta condición a través de pruebas más accesibles que impliquen el uso de la saliva y describir la información actual sobre este tipo de examen para la detección temprana de la enfermedad, además del éxito de las mismas en colaborar con el corte de la cadena de transmisión de la enfermedad y el impacto que esto pudiera tener en la población.

Métodos de detección del SARS-CoV-2

Existen actualmente múltiples pruebas que permiten la detección de SARS-CoV-2, sin embargo, el patrón de diseminación viral y el impacto resultante en los métodos de muestreo de diagnóstico son actualmente desconocidos (7).

Sin embargo, el “Gold Estándar” del diagnóstico de ésta condición implica la secuenciación genómica, que además provee una excelente resolución de toda la información genética de la enfermedad. Sin embargo, para las aplicaciones de diagnóstico clínico oportuno, como la vigilancia de la población en tiempo real y las recomendaciones de tratamiento, el uso de la secuenciación del genoma completo es menos factible porque no se realiza de forma rutinaria en los laboratorios clínicos (15).

Al respecto, la prueba de detección de PCR ha sido empleada, para la detección de la enfermedad desde el inicio de la pandemia, incluyendo además a las diferentes variantes que se han reportado del SARS-CoV-2, (Alpha, Beta, Gamma y

Delta). En relación a esto, se ha encontrado la efectividad de esta prueba en la detección de la enfermedad, sin embargo, diferentes ensayos publicados a lo largo de los últimos dos años han indicado que es probable que la saliva se empleada como un método de diagnóstico en esta condición.

Funcionamiento del test de saliva

Actualmente las pruebas demuestran que la saliva puede ser empleada como una herramienta diagnóstica del SARS-CoV-2, siendo además precisa, a diferencia de algunas pruebas realizadas en nasofaringe. Al respecto, Marais et al 2021, a finales del 2021 publica un estudio en donde realiza la comparación de la detección de la variante Omicron a diferencia de otro grupo de variantes detectadas anteriormente en la enfermedad (Delta). Sus resultados son interesantes, ellos encontraron que el porcentaje positivo de concordancia (PPC) de los hisopos de saliva y los hisopos de cornete medio con un estándar compuesto fue del 71 % (IC del 95 %: 53-84 %) y del 100 % (IC del 95 %: 89-100 %), respectivamente, para el variante Delta. Sin embargo, para la variante de Omicron, los hisopos de saliva y cornete medio tuvieron un 100 % (95 % IC: 90-100 %) y 86 % (95 % IC: 71-94 %) PPC, respectivamente. Este hallazgo respalda los datos de tropismo tisular alterado de otros laboratorios para la variante Omicron. Es posible que se requiera una reevaluación del estándar de atención de las pruebas de diagnóstico, ya que la variante Omicron se convirtió al menos en el primer trimestre del 2022 en la variante dominante en todo el mundo (7).

Efectividad y costos del test de saliva y su impacto en la salud pública

Por otro lado, la prueba de secuenciación genómica, suele ser limitada debido a los tiempos de respuestas lentos y altos costos de las muestras, es por esto que se requieren estrategias más accesibles a nivel económico para la vigilancia a nivel de la población de las variantes que se vayan manifestando del SARS-CoV-2, lo que hace que algunos autores recomienden el uso del Test de Saliva pues en promedio representa en costos de 5 a 10 dolares americanos y por el método de toma de la muestra requiere poco entrenamiento para quien la toma y brinda comodidad para la

toma en poblaciones como los niños y el adulto mayor (2,16).

Discusión

En abril de 2020, la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) otorgó una autorización de uso de emergencia (EUA) a RUCDR Infinite Biologics de Rutgers y sus colaboradores para un nuevo enfoque de recolección de muestras que utiliza la saliva como biomaterial de prueba principal para el coronavirus SARS-CoV-2. la primera aprobación de este tipo otorgada por la agencia federal (<https://www.fda.gov/media/136877/download>). Este nuevo método de recolección de diagnóstico basado en saliva, que RUCDR ha desarrollado en asociación con Spectrum Solutions y Accurate Diagnostic Labs (ADL), pretende permitir una detección más fácil y, por lo tanto, más amplia de la población en comparación con el método actual que utiliza hisopos de nariz y garganta. También se aprobó otra EUA acelerada para el "Ensayo Curative-Korva SARS-Cov-2", que fue diseñado específicamente para su uso con muestras de fluidos orales, para permitir la prueba de fluidos orales, es decir, saliva (<https://www.fda.gov/media/137088/download>). Los hisopos nasofaríngeos, orofaríngeos y nasales también se pueden usar con el ensayo Curative-Korva SARS-CoV-2, pero aún no se ha evaluado su rendimiento con este ensayo (<https://www.fda.gov/media/137088/download>). Estos dos ensayos basados en saliva y aprobados por la FDA ahora se utilizan para detectar la infección por COVID-19, a pesar de que ningún análisis científico independiente ha establecido aún su eficacia, sin embargo, en 2020 se publica un metanálisis por Czumbel LM et al. 2022 que revisa la evidencia existente de varios estudios sobre la validez del enfoque basado en la saliva. (2)

El uso de la saliva como herramienta de diagnóstico para varias condiciones sistémicas no es nada nuevo. En el pasado se ha realizado un esfuerzo considerable de investigación para buscar biomarcadores en saliva, ya que su recolección es no invasiva y fácil. Como resultado, la evidencia emergente indica que la saliva entera se puede usar para identificar diversas afecciones orales y sistémicas [para revisiones, consulte (5,8,10,13).

Al respecto, es importante destacar que la propuesta de usar saliva para detectar infecciones virales ahora está sustentada adecuadamente, como los virus de ARN, las pruebas de diagnóstico salivales para el Zika están bien probadas (5,6) y se han informado varios métodos de detección basados en la saliva para la detección del virus del Ébola (7).

También se ha demostrado de manera inequívoca la presencia de cantidades considerables de ARN viral en la saliva de 17 pacientes infectados con SARS (8). Pero la mayoría de los estudios carecen de una comparación directa de la sensibilidad y la especificidad de los ensayos basados en NPS y saliva. La única excepción importante es un estudio que comparó muestras de saliva y NPS para la detección de virus respiratorios mediante RT-PCR multiplex (9). Este estudio, que incluyó los resultados de 236 pacientes con 11 infecciones respiratorias virales diferentes, incluidos los coronavirus, no reveló diferencias significativas en la sensibilidad y especificidad de las pruebas basadas en saliva y NPS (9). En conjunto, aunque los diagnósticos basados en la saliva están respaldados por una cantidad considerable de evidencia, las aplicaciones de rutina aún son raras debido a la falta de protocolos bien estandarizados.

Por otro lado, en Czumbel LM et al 2022 (2) Evaluó la confiabilidad y consistencia de la detección de ARN viral SARS-CoV-2 en muestras de saliva. El número de pruebas positivas y el número total de pruebas realizadas se recopilaron como datos sin procesar. Encontraron una sensibilidad del 91 % (IC 80–99 %) para las pruebas de saliva y una sensibilidad del 98 % (IC 89–100 %) para las pruebas de hisopado nasofaríngeo (NPS) en pacientes con COVID-19 previamente confirmados, con una heterogeneidad moderada entre los 18 estudios que llenaron los parámetros del metanálisis. Ellos concluyen que las pruebas de saliva ofrecen una alternativa prometedora a las NPS para el diagnóstico de COVID-19. Sin embargo, se necesitan más estudios de precisión diagnóstica para mejorar su especificidad y sensibilidad.

Marais, G et al. (7), describen en su estudio que Los hisopos de saliva pueden ser la

forma de toma de muestra ideal para la detección de Omicron La variante Omicron se caracteriza por más de 50 mutaciones distintas, la mayoría de las cuales están ubicadas en la proteína espiga. Las implicaciones de estas mutaciones, según describen, para la transmisión de enfermedades, el tropismo tisular y las pruebas de diagnóstico aún no se han determinado de forma clara por lo que justifican su evaluación del rendimiento relativo de hisopos de saliva y de cornete medio como muestras de RT-PCR para las variantes Delta y Omicron. El porcentaje positivo de concordancia (PPA) de los hisopos de saliva y los hisopos de cornete medio con un estándar compuesto fue del 71 % (IC del 95 %: 53-84 %) y del 100 % (IC del 95 %: 89-100 %), respectivamente, para el variante delta. Sin embargo, para la variante de Omicron, los hisopos de saliva y cornete medio tuvieron un 100 % (95 % IC: 90-100 %) y 86 % (95 % IC: 71-94 %) PPA, respectivamente. Este hallazgo respalda según los autores los datos ex vivo de tropismo tisular alterado de otros laboratorios para la variante Omicron. Es posible que se requiera una reevaluación del estándar de atención de las pruebas de diagnóstico, ya que la variante Omicron se convierte en la variante dominante en todo el mundo.

Teo, A.K.J et al (18) probaron la sensibilidad de la saliva naso-orofaríngea y el hisopo nasal (SN) auto administrado en comparación con el hisopo nasofaríngeo (NP) para la prueba de COVID-19 en una gran cohorte de trabajadores migrantes en Singapur. También probaron la utilidad de la secuenciación de próxima generación (NGS) para el diagnóstico de COVID-19. Se recolectaron hisopos de saliva, NP y SN de sujetos que presentaban una infección respiratoria aguda, sus compañeros de cuarto asintomáticos y casos confirmados previos que estaban en aislamiento en un centro de atención comunitaria en junio de 2020. Todas las muestras se analizaron mediante RT-PCR. Se realizó NGS basado en amplicón de SARS-CoV-2 con análisis filogenético para 30 muestras. LA muestra tuvo 200 sujetos, de los cuales 91 y 46 fueron evaluados dos y tres veces respectivamente. En total, el 62,0%, 44,5% y 37,7% de las muestras de saliva, NP y SN fueron positivas. Los valores de umbral de ciclo (Ct) fueron más bajos durante el

período anterior de infección en todos los tipos de muestras. El porcentaje de saliva con prueba positiva fue más alto que los hisopos NP y SN. Concluyen que existe una fuerte correlación entre la cobertura del genoma viral por NGS y los valores de Ct para SARS-CoV-2. Los análisis filogenéticos revelaron que se sabe que el Clado O y el linaje B.6 circulan en Singapur y que la saliva es una muestra sensible y viable para el diagnóstico de COVID-19.

En un estudio de una gran cohorte Sasikala, M et al (19) establecen como objetivo determinar la sensibilidad de la saliva frente a los hisopos recogidos por los trabajadores de la salud (HCW) y los propios pacientes para evaluar si la detección de saliva puede ofrecerse como un método rentable y sin riesgos para la detección del SARS-CoV-2. Este estudio se realizó en un hospital con pacientes ambulatorios y hospitalizados. Se evaluaron un total de 3018 pacientes ambulatorios. De estos, 200 pacientes positivos para SARS-CoV-2 confirmados por qRT-PCR fueron reclutados para un estudio adicional. Además, también se inscribieron en el estudio 101 pacientes hospitalizados positivos para SARS-CoV-2 con síntomas. De los pacientes ambulatorios, los trabajadores sanitarios recogieron hisopos nasofaríngeos (NPS), se obtuvieron saliva. De los pacientes hospitalizados, se obtuvieron hisopos recogidos por los trabajadores de la salud, hisopos recogidos por los pacientes y saliva. Se realizó qRT-PCR para detectar SARS-CoV-2 mediante el ensayo TAQPATH para determinar la sensibilidad de la detección de saliva. Se calcularon la sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos positivo/negativo (VPP, VPN) de detección del SARS-CoV-2. De los pacientes analizados por qRT-PCR, 200 dieron positivo (81 asintomáticos, 119 sintomáticos). De estos, la saliva fue positiva en 128 (64%); 39 de 81 asintomáticos, 89 de 119 pacientes sintomáticos. La comparación de la positividad con el inicio de los síntomas reveló la detección más alta en la saliva el día 3 después del inicio de los síntomas. Además, solo la saliva fue positiva en 13 (12,8 %) pacientes hospitalizados. Su conclusión es que la saliva, que es más fácil de recolectar que el hisopado nasofaríngeo, es una alternativa viable para

detectar el SARS-COV-2 en pacientes sintomáticos en la etapa temprana de aparición de los síntomas. Aunque actualmente no se recomienda la saliva para la detección de pacientes asintomáticos, la optimización de la recolección y el momento uniforme del muestreo podrían mejorar la sensibilidad y permitir su uso como herramienta de detección a nivel comunitario.

Conclusión:

Esta revisión resume el contenido señalado por los autores, el cual señala que la saliva, es un test más fácil de recolectar que el hisopo nasofaríngeo y el hisopo orofaríngeo, se puede usar como muestra para evaluar a pacientes sintomáticos en las primeras etapas del inicio de los síntomas con efectividad y Actualmente siguen sus estudios como herramienta de prueba en pacientes asintomáticos o con fines de detección debido a la necesidad de protocolos uniformes. Representan una opción menos invasiva en su toma con una efectividad comprobada.

Referencias

1. World Health, O. WHO Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard (2022). Extraído de: <https://covid19.who.int> (revisado el 01 Nov, 2022).
2. Czumbel, L. M., Kiss, S., Farkas, N., Mandel, I., Hegyi, A., Nagy, Á., Lohinai, Z., Szakács, Z., Hegyi, P., Steward, M. C., & Varga, G. (2020). Saliva as a candidate for COVID-19 diagnostic testing: A meta-analysis. In *Frontiers in Medicine* (Vol. 7). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmed.2020.00465>
3. Lippi G, Simundic AM, Plebani M. Potential preanalytical and analytical vulnerabilities in the laboratory diagnosis of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Clin Chem Lab Med.* (2020) 58:1070–6. doi: 10.1515/cclm-2020- 0285.
4. World Health, O. Laboratory Testing for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in Suspected Human Cases: Interim Guidance. Geneva (2020). Retrieved from: <https://www.who.int/publications-detail/laboratory-testing-for-2019-novel-coronavirus-in-suspected->

- human- cases- 20200117 (accessed March 19, 2020).
5. Kim YG, Yun SG, Kim MY, Park K, Cho CH, Yoon SY, et al. Comparison between saliva and nasopharyngeal swab specimens for detection of respiratory viruses by multiplex reverse transcription-PCR. *J Clin Microbiol.* (2017) 55:226–33. doi: 10.1128/JCM.01704-16.
 6. Li H, Liu SM, Yu XH, Tang SL, Tang CK. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): current status and future perspectives. *Int J Antimicrobial Agents.* (2020) 55:105951. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105951.
 7. Marais, G., Hsiao, N.-Y., Iranzadeh, A., Doolabh, D., Enoch, A., Chu, C.-Y., Williamson, C., Brink, A., & Hardie, D. (n.d.). Saliva swabs are the preferred sample for Omicron 1 detection 2 3. <https://doi.org/10.1101/2021.12.22.21268246>
 8. Sri Santosh T, Parmar R, Anand H, Srikanth K, Saritha M. A review of salivary diagnostics and its potential implication in detection of Covid-19. *Cureus.* (2020) 12:e7708. doi: 10.7759/cureus.7708.
 9. Varga G. Physiology of the salivary glands. *Surgery.* (2015) 33:581–6. doi: 10.1016/j.mpsur.2015.09.003.
 10. Dawes C, Wong DTW. Role of saliva and salivary diagnostics in the advancement of oral health. *J Dent Res.* (2019) 98:133–41. doi: 10.1177/0022034518816961.
 11. Humphrey SP, Williamson RT. A review of saliva: normal composition, flow, and function. *J Prosthet Dent.* (2001) 85:162–9. doi: 10.1067/mp.2001.113778.
 12. Miller CS, Foley JD, Bailey AL, Campell CL, Humphries RL, Christodoulides N, et al. Current developments in salivary diagnostics. *Biomark Med.* (2010) 4:171–89. doi: 10.2217/bmm.09.68.
 13. Keremi B, Beck A, Fabian TK, Fabian G, Szabo G, Nagy A, et al. Stress and salivary glands. *Curr Pharm Des.* (2017) 23:4057–65. doi: 10.2174/1381612823666170215110648
 14. Niedrig M, Patel P, El Wahed AA, Schadler R, Yactayo S. Find the right sample: a study on the versatility of saliva and urine samples for the diagnosis of emerging viruses. *BMC Infect Dis.* (2018) 18:707. doi: 10.1186/s12879-018-3611-x.
 15. Ham, R. E., Smothers, A. R., Che, R., Sell, K. J., Peng, C. A., & Dean, D. (2022). Identifying SARS-CoV-2 Variants of Concern through Saliva-Based RT-qPCR by Targeting Recurrent Mutation Sites. *Microbiology Spectrum,* 10(3). <https://doi.org/10.1128/spectrum.00797-22>
 16. Rossen JWA, Friedrich AW, Moran-Gilad J, ESCMID Study Group for Genomic and Molecular Diagnostics (ESGMD). 2018. Practical issues in implementing whole-genome-sequencing in routine diagnostic microbiology. *Clin Microbiol Infect* 24:355–360. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2017.11.001>.
 17. Kaczor-Urbanowicz KE, Martin Carreras-Presas C, Aro K, Tu M, Garcia-Godoy F, Wong DT. Saliva diagnostics - current views and directions. *Exp Biol Med.* (2017) 242:459–72. doi: 10.1177/1535370216681550.
 18. Teo, A.K.J., Choudhury, Y., Tan, I.B. et al. Saliva is more sensitive than nasopharyngeal or nasal swabs for diagnosis of asymptomatic and mild COVID-19 infection. *Sci Rep* 11, 3134 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82787-z>

19. Sasikala, M., Sadhana, Y., Vijayarathy, K. et al. Comparison of saliva with healthcare workers- and patient-collected swabs in the diagnosis of COVID-19 in a large cohort. *BMC Infect Dis* 21, 648 (2021). <https://doi.org/10.1186/s12879-021-06343-w>