

RECOMENDACIONES PARA EL USO DE LAS PRUEBAS EN SALIVA ANTE LA COVID-19



La técnica de RT-PCR sigue siendo el estándar de oro como prueba diagnóstica para la detección del COVID-19 y el hisopado nasofaríngeo como material de muestra ideal para dicha detección.

Conforme la pandemia se ha extendió y no se ha podido controlar se han diseñado diferentes metodologías o buscado nuevas alternativas en la muestra con ventajas y desventajas que deben ser analizadas por quien decida realizarlas.

Las pruebas utilizando la saliva como tipo de muestra son las que han creado nueva controversia. Estos ensayos están diseñados para realizarse en casa o por el mismo usuario sin que sean interpretadas por personal entrenado. Por ser menos invasivas pueden aplicarse en niños, en ancianos o para quien sea muy molesta la toma del hisopado nasofaríngeo tradicional.

En los siguientes párrafos analizaremos algunos aspectos con relación a la metodología así como su empleo como prueba rápida de antígeno.

EL USO DE LA SALIVA COMO MATERIAL BIOLÓGICO EN LOS ENSAYOS CLÍNICOS PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA COVID-19

Se han reportado tres vías diferentes por las cuales el SARS-CoV-2 puede presentarse en la saliva:

1.- El virus comúnmente se encuentra en el tracto respiratorio inferior y superior ingresando y relacionándose con la cavidad oral a través del traspaso de secreciones de manera bidireccional.

2. El virus circulante en el torrente sanguíneo puede acceder a la boca a través del líquido gingival crevicular, un exudado específico de la cavidad oral que contiene proteínas locales derivadas de la matriz extracelular y proteínas derivadas del suero.

3. Mediante la colonización e infección de las glándulas salivales mayores y menores con la posterior liberación de partículas en la saliva a través de los conductos salivales, esto debido a que se han encontrado receptores ACE2 en los conductos de las glándulas salivales.

Ventajas del uso de la saliva

1. Facilidad en la obtención de la muestra: El paciente puede

proporcionar fácilmente muestras de saliva sin ningún tipo de procedimiento invasivo.

2.- Necesidad de muestras a gran escala o para monitoreo de casos.

3.- No requiere de personal de salud: la muestra la puede recabar el mismo paciente, se recomienda estandarizar la recolección de esta por el personal de laboratorio para evitar errores durante la toma o la recolección.

4.- Por otro lado, el uso de muestras de saliva permitiría ahorrar el tiempo de espera para la recolección de muestras y, por lo tanto, agilizar la disponibilidad de los resultados.

Desventajas del uso de saliva

1. Se requiere estandarizar la técnica

2. Se ha reportado baja sensibilidad

3. Es importante realizar una adecuada recolección de la muestra por las interferencias reportadas

Recolección de la muestra:

Preparación del paciente:

1.- Se recomienda enjuagar bien

la boca con agua natural media hora antes de la recolección de saliva. Idealmente se recomienda la primera muestra de saliva de la mañana sin cepillarse los dientes.

2.- Durante estos 30 minutos previos, no se debe comer, beber, fumar o usar vaporizadores, ingerir medicamentos, ni mascar chicle, ocupar enjuagues bucales ni hilo dental, así mismo, evitar maquillaje, crema labial o pintalabios que podrían interferir con la prueba. El paciente se debe asegurar que no contenga restos de alimentos en la boca.

3.- La muestra se puede recabar en un recipiente de boca ancha estéril, los volúmenes recomendables para su procesamiento oscilan entre 1 y 3 ml, se debe cuidar que la muestra no contenga moco que puede interferir con la prueba. Estos volúmenes deben ser revisados y estandarizados por cada laboratorio en base al procedimiento validado. Tener en consideración que la mayoría de las personas necesitan de 10 a 12 minutos para poder producir la suficiente saliva para poder recabar el volumen necesario.

4.- Actualmente se cuentan con algunos dispositivos de

recolección de saliva disponibles en el mercado para una recolección segura y estéril sin comprometer la calidad y la cantidad de la muestra. Se recomienda revisar el inserto de la prueba para poder estandarizar los resultados, ya que algunos kits vienen adicionados con conservadores especiales o almohadillas para facilitar la recolección.

5.- Estabilidad de la muestra: 48 horas, temperatura de conservación: 5-15°C. Se recomienda revisar las indicaciones del kit de transporte en caso de contar con uno.

No aconsejado en: personas con baja producción de saliva, niños muy pequeños o pacientes postrados.

Aconsejado en: pacientes en donde es más complicado realizar la toma nasofaríngea como pueden ser adultos mayores o niños.



	DIAGNOSTICO SALIVAL	DIAGNOSTICO CONVENCIONAL
Toma de muestra	Expulsar saliva en un recipiente	Hisopos nasofaríngeos
Lugar de toma de muestra	Ambiente extrahospitalario y hospitalario	Ambiente hospitalario o de la salud
Riesgo de contaminación	Bajo riesgo	Elevado riesgo
Personal de toma de muestra	Auto recolección	Requiere personal calificado
Complicaciones	No reportadas	Sangrados, desgarros muy pocos casos reportados

Tabla: Resumen comparativo de diagnóstico mediante saliva y métodos convencionales.

APEGO EN LAS INDICACIONES O MODIFICACIONES EN LA TECNICA DE RECOLECCION O PROCESAMIENTO EN LOS ENSAYOS CLINICOS.

En el laboratorio clínico, los métodos de medición están diseñados para proporcionar información diagnóstica que permita direccionar u orientar la toma de decisiones médicas. Un método o una prueba deben hacer correspondencia a la utilidad clínica para la cual fue diseñada, validada y aprobada.

Es atribución de la COFEPRIS el aprobar los dispositivos médicos o de diagnósticos utilizados en México; un elemento clave para conocer las características con las que una prueba fue aprobada es su "inserto". Es responsabilidad del usuario (laboratorio) verificar que la ejecución del método/prueba se realice cumpliendo las características descritas en su inserto, por ejemplo, el tipo de matriz biológica, el tipo de contenedor, la estabilidad de la muestra y/o reactivos, entre otras.

Cualquier cambio en las características de las pruebas bajo las cuales fueron aprobadas conlleva a posibles incumplimientos normativos; por ello, existen directrices nacionales e internacionales que guían un proceso de validación analítica (es

preciso aclarar que la "verificación analítica" es distinta a la "validación analítica", a grandes rasgos, en la verificación el usuario no está cambiando las características del método y son protocolos más accesibles en términos de muestreo y análisis estadístico).

Para efectos de pruebas COVID-19 (serológicas, de antígeno y PCR) se recomienda dar cabal cumplimiento a lo descrito en los insertos; modificar una matriz biológica, por ejemplo, exudado nasofaríngeo por saliva, deberá ser un proceso controlado y en estricta comunicación con el fabricante de la prueba pues su utilidad clínica podría verse comprometida.



IV METODOLOGIAS DISPONIBLES

PRUEBAS MOLECULARES

Existe una gran cantidad de literatura que demuestra que es viable usar saliva como matriz para realizar sobre ella RT-PCR para la detección de SARS-CoV-2, sin embargo hay varias consideraciones que se deben de tomar en cuenta:

1.- Existe una gran variabilidad en la sensibilidad obtenida entre los estudios, que puede ir desde 60% hasta 95%, sin embargo en estudios de meta análisis se puede concluir que la sensibilidad alcanzada en la mayoría de los casos es del 82% al 85%.

2.- Los principales factores preanalíticos que contribuyen a disminuir la sensibilidad son la recolección de la muestra de saliva (sitio de obtención de la saliva), el medio de transporte y la viscosidad de la muestra

3.- El principal factor analítico que debemos considerar son los métodos de extracción, dado que extrapolar los métodos de extracción de muestras nasofaríngeas, sin previas validaciones, a demostrado que en muchos casos disminuyen la sensibilidad, muchas veces la saliva requiere de procesos diferentes de lisis.

4.- Se ha observado que la pérdida de sensibilidad y los falsos negativos aumentan según el gen que se esté amplificando en la RT-PCR, hay un aumento en los falsos negativos cuando se amplifica el gen ORF1ab en comparación con N o E, en muestras de saliva. Si no se está utilizando un kit validado por el fabricante para utilizar saliva como matriz se corre el riesgo de obtener una sensibilidad mucho más baja al utiliza saliva en relación a lo reportado por el fabricante para la matriz para la que originalmente se estandarizó el kit , la razón se desconoce.

5.- No se recomienda combinar metodologías que se están probando como el no hacer extracción o usar la técnica RT-LAMP para la amplificación sobre muestras de saliva, ya que se ha demostrado que para ambos se disminuye la sensibilidad comparado contra el estándar de oro, que es realizar extracción automatizada por afinidad y RT-PCR respectivamente.

6.- Los factores biológicos son los más delicados ya que se han encontrado diferencias significativas en la sensibilidad al comparar en los mismos pacientes muestras NF y de saliva, disminuyendo considerablemente en pacientes asintomáticos (60% de sensibilidad), después de 7 días del inicio de los síntomas (70% de sensibilidad) y/o cargas virales bajas (con CT mayores de 30 en muestras NF se pueden obtener falsos negativos con saliva).



PRUEBA RAPIDA DE ANTIGENO

Las pruebas de antígeno están dirigidas a reconocer las proteínas virales. En teoría la saliva como fuente de muestra para estas pruebas también puede ser empleado. Sin embargo, los hallazgos en la literatura científica al respecto no son concluyentes sensibilidad que va del 84% al 100% especificidad. Como ensayo clínico en teoría está sujeto al mismo algoritmo que las pruebas antigénicas circulantes y su utilidad diagnóstica está sujeta a la comprobación por la metodología tradicional. Aunque por una parte estudios han demostrado una sensibilidad similar a las pruebas moleculares (RT-PCR) por otro lado, otros estudios demuestran una menor precisión, en pacientes no hospitalizados. La reproducibilidad del resultado aun en el mismo paciente muestra discrepancias quizá debido a la heterogeneidad de la muestra. Los mejores resultados se obtienen cuando la muestra se toma por la mañana antes de ingerir alimentos o del cepillado de los dientes.

Es indudable las ventajas que las pruebas realizadas en casa pueden tener para pacientes a los cuales se les dificulta la realización del hisopado nasofaríngeo, pero es necesario considerar la toma correcta de la muestra así como el proceso de descontaminación del material proveniente en caso de un resultado positivo.

Recordar que el tipo de muestra obtenida (saliva de cavidad bucal anterior vs expectoración), influencia el resultado y que por lo tanto un paciente sintomático con un resultado negativo tendrá que recurrir a una prueba molecular por evitar resultados falsos negativos.

REFERENCIAS

- Melián-Rivas, Andrés, Calcumil-Herrera, Pablo, Boin-Bakit, Camila, & Carrasco-Soto, Rolando. (2020). Detección de COVID-19 (SARS-CoV-2) Mediante la Saliva: Una Alternativa Diagnóstica poco Invasiva. *International journal of odontostomatology*, 14(3), 316-320. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-381X2020000300316>
- MN Department of Health. (2021). Types of COVID-19 Tests. septiembre 2, 2021, de MN Department of Health. Sitio web: <https://www.health.state.mn.us/diseases/coronavirus/testsites/types.html>
- Referencia Laboratorio Clínico. (2020). INSTRUCTIVO PARA LA TOMA DE MUESTRA KIT COVID-19. septiembre 2, 2021, de Referencia Laboratorio Clínico Sitio web: <https://www.labreferencia.com/wp-content/uploads/2020/07/instructivo-kit-covid-19.pdf>
- NMX-EC-15189-IMNC-2015, Laboratorios Clínicos - Requisitos De La Calidad y Competencia, Numeral 5.5.1.3 Cap Laboratory Accreditation Program, Check List All Commun-40450, Com 40400, 40500.
- Diagnostic performance of different sampling approaches for SARS-CoV-2 RT-PCR testing: a systematic review and meta-analysis *Lancet Infect Dis* 2021; 21: 1233-45 [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(21\)00146-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(21)00146-8)
- Are saliva and deep throat sputum as reliable as common respiratory specimens for SARS-CoV-2 detection? A systematic review and meta-analysis <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2021.03.008> *American Journal of Infection Control* 49 (2021) 1165-1176
- Considerations for the use of saliva as simple material for COVID-19 testing *European Center for Disease Prevention and Control* 3 May 2021 ECDC; 2021-09-02
- Saliva Based testing as alternative to traditional COVID-19 Testing Techniques *The Canadian Agency for Drugs and Technology in Health*. CADTH. December 2020
- Rapid, point of care antigen and molecular based tests for diagnosis of SARS CoV 2 infection. Published online 2021 Mar 24. doi: 10.1002/14651858.CD013705.pub2P MCID: PMC8078597 PMID: 33760236