

Saliva como muestra estándar de oro para la detección del SARS-CoV-2

Steph H Tan, Orchid Allicock, Mari Armstrong-Hough, *Anne L Wyllie

Department of Epidemiology of Microbial Diseases (SHT, OA, ALW) and Department of Social and Behavioral Sciences (SHT).

Yale School of Public Health, New Haven, CT 06510, USA; Uganda Tuberculosis Implementation Research Consortium, Makerere University, Kampala, Uganda (MA-H).

Department of Social and Behavioral Sciences and Department of Epidemiology, New York University School of Global Public Health, New York, NY, USA (MA-H).

The Lancet, 1 [doi.org/10.1016/S2213-2600\(21\)00178-8](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(21)00178-8), 19 de abril, 2021.



A medida que el COVID-19 continúa ejerciendo presión sobre los sistemas de salud pública, y los programas de vacunación compiten contra nuevas variantes que podrían ser más transmisibles o capaces de evadir las respuestas inmunes, permanece la urgente necesidad de pruebas accesibles y frecuentes. Deben estar disponibles para aplicar, estrategias baratas, escalables y sostenibles, de pruebas repetibles a lo largo del tiempo. Esto es posible analizando la saliva.

Se determinó que la muestra de referencia para la detección del SARS-CoV-2 era el hisopado nasofaríngeo debido a su función en la detección de otros patógenos del tracto respiratorio superior. La demanda de hisopados provocó un colapso en cascada de las cadenas de abastecimiento y el empeoramiento de la escasez de equipos de protección personal (EPP) requeridos por los trabajadores de la salud para la toma de muestra. Al surgir la necesidad de pruebas masivas y de muestreos más frecuentes y repetidos, la urgencia de tipos de muestras alternativas se hizo usual.

Aunque no es un tipo de muestra de diagnóstico tradicional, los informes sobre el uso de saliva para la detección del SARS-CoV-2 surgieron en unos meses. Comparado con los métodos de hisopados, la recolección de saliva es mínimamente invasiva, puede ser auto-recolectada de manera confiable sin personal capacitado,^{1,2} y alivia la demanda de suministro de hisopos y de EPP. Como resultado, la saliva permite pruebas más frecuentes y asequibles, que causen menos aversión a las pruebas, y que presente menos riesgos al personal sanitario, en comparación con los métodos de hisopados.

A pesar del entusiasmo por las pruebas de saliva, la controversia permanece en torno a su sensibilidad para la detección del SARS-CoV-2, en comparación con otras pruebas. A diferencia del muestreo con hisopados, los métodos de recolección y procesamiento para la saliva, en gran parte no están estandarizados. Por lo tanto, los estudios para evaluar la eficacia de las pruebas de SARS-CoV-2 a base de saliva han sido contradictorias e inconmensurables, y a menudo poco claras o inconsistentes acerca de los procedimientos de prueba y de análisis. Gran parte de esta variación entre estudios probablemente se deba a las evaluaciones tempranas de saliva de pacientes hospitalizados, que generalmente es más viscosa con mayor y contenido de moco, lo que hace que sea más difícil de procesar que las muestras de la población general.³

Los informes contradictorios han obstaculizado la autorización regulatoria y la adopción generalizada de las pruebas de saliva.

A medida que se replicaron enfoques exitosos, surgió evidencia adicional acerca de las pruebas de saliva. En noviembre del 2020, 58 estudios habían evaluado la detección del SARS-CoV-2 en saliva, 54 con RT-PCR, 4 con amplificación isotérmica mediada por bucle (RT-LAMP), y 3 utilizando ambos (apéndice). Sin embargo, las discrepancias metodológicas entre los estudios llevaron a tasas de detección variables. La mayoría (69%) de los estudios de RT-PCR encontraron sensibilidades mayores o similares ($\leq 10\%$ de diferencia) para la saliva en comparación con el hisopado de nasofaringe y otros métodos basados en hisopados, mientras que el 7% mostró resultados mixtos, con sensibilidad que difiere por grupo de población, etapa de la infección o método. Solo el 24% encontró que la saliva era menos sensible que los hisopados nasofaríngeos, lo que sugiere que, si se aplican los métodos adecuados, la efectividad de las pruebas de PCR a base de saliva es al menos similar a la de las técnicas basadas en hisopados. Por el contrario, el uso de métodos menos robustos, pueden sesgar las sensibilidades informadas en los estudios. Es importante destacar que la saliva detectó un 10% adicional de individuos positivos, para quienes los hisopados produjeron resultados falsos negativos.

Las pruebas de saliva se adoptaron con éxito para la detección de SARS-CoV-2 en numerosos países, incluidos Corea del Sur, Alemania y Japón.⁴

En los Estados Unidos, las pruebas de saliva ganaron fuerza para facilitar la reapertura de las instituciones educativas,⁵ con su potencial para poner en las muestras en común para su procesamiento (pooling),⁶ permitiendo programas de pruebas sostenibles.⁷

Como método preferido para pruebas frecuentes y repetidas, la saliva podría ser especialmente adecuada para detectar el SARS-CoV-2 durante la fase prodrómica,⁸ disminuyendo el riesgo de transmisión adicional.

A medida que evoluciona la pandemia, el valor predictivo positivo (VPP) y el valor predictivo negativo (VPN) esperados a partir de una sensibilidad y especificidad determinadas en los entornos del mundo real, varían con la prevalencia de la infección. A medida que la prevalencia disminuye en una población, el VPN aumenta mientras que el VPP disminuye. Sin embargo, las estimaciones robustas de sensibilidad y la especificidad sustentan valores predictivos precisos para la extensión de la prevalencia. Las diferencias metodológicas que influyen en las sensibilidades informadas afectan directamente a los valores en los entornos clínicos y comunitarios. Los métodos inconsistentes e insuficientemente informados contribuyen a estimaciones inconmensurables de VPP y VPN.

Los métodos de prueba del SARS-CoV-2 basados en saliva podrían influir en las tasas de detección en relación con los métodos nasofaríngeos por múltiples razones, que incluyen defectos metodológicos, como simplemente sustituir la saliva en los métodos de extracción nasofaríngeos específicos. La saliva requiere un manejo diferente a los hisopados; es insuficiente para simplemente aplicar las técnicas basadas en hisopados.

Los procedimientos de recolección de saliva también podrían afectar la integridad de las muestras, lo que influye en la detección. Los estudios usando métodos que involucran saliva clara (en lugar de esputo) y procesamiento para reducir la viscosidad (por ejemplo, homogeneización) mostraron mayor sensibilidad en relación con los hisopados. Los métodos que requieren una producción contundente de saliva, como por ejemplo escupir o toser, en lugar de babear, reducen la sensibilidad (apéndice). El escupir de orofaringe, en particular, debe ser desalentado, porque las muestras resultan ser generalmente más gruesas, y más difíciles de procesar y los pasos adicionales que se requieren para reducir la viscosidad, aumentan el riesgo de contaminación cruzada. La expulsión menos controlada de saliva (escupir) también aumenta el riesgo de transmisión. Además, los procedimientos que involucran sustancias que podrían interferir, como la recolección con dispositivos con algodón o con componentes que inhiben la amplificación de ácidos nucleicos,⁹ y los tubos de almacenamiento que podrían degradar el ARN,¹⁰ reducen la sensibilidad de la prueba.

Es necesaria la estandarización de los métodos de prueba de saliva para mejorar las tasas de detección y resolver así las discrepancias entre estudios. Para facilitar este cambio, los autores deben presentar una metodología que sea lo suficientemente detallada para permitir la replicación. Los autores deben describir tanto la recolección de las muestras como el método de extracción de ARN, incluido el volumen de la muestra de la cual el ARN se extrae y el volumen al que se eluye el ARN. Los volúmenes semejantes pueden informar la concentración de ARN y generar evidencia sobre si esto afecta la detección.

Aunque revisiones sistemáticas recientes^{11,12} encontraron que la saliva parece ser un tipo de muestra eficaz, no se evaluaron las diferencias en la preparación ni la extracción de las muestras de ARN; sin embargo, es probable que estas diferencias contribuyan a diferencias de sensibilidad.

La etapa de la infección durante la cual la muestra es recolectada podría también contribuir a las diferencias de sensibilidad de las pruebas. Los datos sugieren que los hisopados nasofaríngeos pueden detectar casos históricos (resultados positivos de la detección de restos de material viral después de la recuperación de COVID-19¹³), con datos discordantes entre las muestras emparejadas de saliva y nasofaríngeo de más de 21 días desde el inicio de síntomas, en los que las muestras nasofaríngeas produjeron entre un 20% y un 30% más de positivos que la saliva.¹⁴ Al principio de la pandemia, cuando hubo menos pruebas, por lo tanto, los estudios podrían haber malinterpretado la sensibilidad de las muestras de nasofaríngeo en relación a las de saliva. En realidad, la menor tendencia de las muestras de saliva a detectar la eliminación a largo plazo en relación con los hisopados nasofaríngeos¹⁴ es beneficiosa; la saliva podría ser preferible para diferenciar una infección activa en lugar de una infección histórica. Una indicación cada vez más precisa de la contagiosidad puede evitar períodos innecesariamente prolongados de aislamiento, que amenazan la salud mental y el bienestar económico. Las pruebas de saliva durante la infección podrían permitir un aislamiento más corto, con lo que los trabajadores regresarían antes a sus funciones. Sin embargo, ni las pruebas de saliva ni las nasofaríngeas deben ser utilizadas para determinar solo la infecciosidad. Las pruebas deben contribuir a una revisión holística del estado de salud, que incluya la presentación de los síntomas y la trayectoria de recuperación.

Al igual que para la detección de ARN del SARS-CoV-2, la prueba de saliva es una alternativa escalable a las pruebas de anticuerpos en sangre, con anticuerpos anti-SARS-CoV-2 en la saliva que se encuentran reflejando las concentraciones en suero.¹⁵ Por lo tanto, una sola muestra de saliva no invasiva puede permitir simultáneamente la identificación de casos activos, de los casos previos y de las respuestas inmunes inducidas por las vacunas. Aunque la detección de la infección actual guía las medidas de aislamiento, la prueba de anticuerpos puede dilucidar el alcance de los brotes y mejorar así la comprensión de la transmisión asintomática. Combinados, estos datos podrían facilitar el seguimiento de los brotes y de los estados inmunes de la población, lo que guía las decisiones de políticas, incluido la priorización por riesgo ante las limitadas dosis de vacuna. En forma importante, la prueba de anticuerpos salivales proporciona un medio escalable para monitorear la inmunidad colectiva en un mundo post- vacunación.

Las pruebas de SARS-CoV-2 a base de saliva altamente sensibles, permiten pruebas frecuentes y convenientes, desafiando el hisopado nasofaríngeo para su designación como un tipo de muestra estándar de oro. A diferencia de otros tipos de muestras, la saliva es fácil de recolectar y las cadenas de suministro para las estrategias de pruebas masivas son más fáciles de establecer y sostener. La replicación de los métodos más exitosos de saliva es de suma importancia tanto para resolver la controversia en torno a la saliva como el tipo de muestra, facilitando su asimilación. Los métodos estandarizados y económicos basados en saliva son implementables a gran escala, y podrían ser pruebas frecuentes y cómodas para la detección del SARS-CoV-2, en las comunidades a nivel mundial.

REFERENCIAS

1 Petrone ME, Yolda-Carr D, Breban M, et al. Usability of saliva collection devices for SARS-CoV-2 diagnostics. medRxiv 2021; published online Feb 4. <https://doi.org/10.1101/2021.02.01.21250946> (preprint).

- 2 Wyllie AL, Fournier J, Casanovas-Massana A, et al. Saliva or nasopharyngeal swab specimens for detection of SARS-CoV-2. *N Engl J Med* 2020; 383: 1283–86.
- 3 Landry ML, Criscuolo J, Peaper DR. Challenges in use of saliva for detection of SARS CoV-2 RNA in symptomatic outpatients. *J Clin Virol* 2020; 130: 104567.
- 4 Oba J, Taniguchi H, Sato M, et al. RT-PCR screening tests for SARS-CoV-2 with saliva samples in asymptomatic people: strategy to maintain social and economic activities while reducing the risk of spreading the virus. *Keio J Med* 2021; published online March 19. <https://doi.org/10.2302/kjm.2021-0003-OA>.
- 5 Bi C, Mendoza R, Cheng H-T, et al. Pooled surveillance testing program for asymptomatic SARS-CoV-2 infections in K-12 schools and universities. *medRxiv* 2021; published online Feb 12. <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2021.02.09.21251464v1> (preprint).
- 6 Watkins AE, Fenichel EP, Weinberger DM, et al. Pooling saliva to increase SARS-CoV-2 testing capacity. *medRxiv* 2020; published online Sept 3. <https://doi.org/10.1101/2020.09.02.20183830> (preprint).
- 7 Fogarty A, Joseph A, Shaw D. Pooled saliva samples for COVID-19 surveillance programme. *Lancet Respir Med* 2020; 8: 1078–80.
- 8 Johnson AJ, Zhou S, Hoops SL, et al. Saliva testing is accurate for early-stage and presymptomatic COVID-19. *medRxiv* 2021; published online March 5. <https://doi.org/10.1101/2021.03.03.21252830> (preprint).
- 9 Matic N, Stefanovic A, Leung V, et al. Practical challenges to the clinical implementation of saliva for SARS-CoV-2 detection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2021; 40: 447–50.
- 10 Becker D, Sandoval E, Amin A, et al. Saliva is less sensitive than nasopharyngeal swabs for COVID-19 detection in the community setting. *medRxiv* 2020; published online May 17. <https://doi.org/10.1101/2020.05.11.20092338> (preprint).
- 11 Butler-Laporte G, Lawandi A, Schiller I, et al. Comparison of saliva and nasopharyngeal swab nucleic acid amplification testing for detection of SARS-CoV-2: a systematic review and meta-analysis. *JAMA Intern Med* 2021; published online Jan 15. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2020.8876>.
- 12 Bastos ML, Perlman-Arrow S, Menzies D, Campbell JR. The sensitivity and costs of testing for SARS-CoV-2 infection with saliva versus nasopharyngeal swabs: a systematic review and meta-analysis. *Ann Intern Med* 2021; published online Jan 12. <https://doi.org/10.7326/M20-6569>.
- 13 Li N, Wang X, Lv T. Prolonged SARS-CoV-2 RNA shedding: not a rare phenomenon. *J Med Virol* 2020; 92: 2286–87.
- 14 Turner F, Vandenberg A, Slepnev VI, et al. Post-disease divergence in SARS-CoV-2 RNA detection between nasopharyngeal, anterior Nares and saliva/oral fluid specimens — significant implications for policy & public health. *bioRxiv* 2021; published online Jan 26. <https://doi.org/10.1101/2021.01.26.21250523>.
- 15 Randad PR, Pisanic N, Kruczynski K, et al. COVID-19 serology at population scale: SARS-CoV-2-specific antibody responses in saliva. *medRxiv* 2020; published online May 26. <https://doi.org/10.1101/2020.05.24.20112300> (preprint).