



INEI
Instituto Nacional de
Enfermedades Infecciosas
"Dr. Carlos G. Malbrán"



**ANLIS
MALBRÁN**
ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE LABORATORIOS
E INSTITUTOS DE SALUD "DR. CARLOS G. MALBRÁN"

Informe del estudio de comparación del uso de hisopado nasofaríngeo-orofaríngeo combinado versus saliva para la detección de genoma de SARSCoV-2 en casos sospechosos de COVID-19

INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS

DEPARTAMENTO DE VIROLOGÍA

SERVICIO DE VIROSIS RESPIRATORIA

CIUDAD AUTÓNOMA DE BUENOS AIRES, MAYO DE 2020

Baumeister, Elsa. Informe del estudio de comparación del uso de hisopado nasofaríngeo-orofaríngeo combinado versus saliva para la detección de genoma de SARS-CoV-2 en casos sospechosos de COVID-19. Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud (ANLIS), 2020.

Disponible en: <http://sgc.anlis.gob.ar/handle/123456789/1594>

Los integrantes del equipo que desarrolló este estudio son: Estefania Benedetti, Martín Avaro, Mara Russo, Maria Eugenia Dattero, Jorge Basiletti, Andrea Pontoriero, Daniel Cisterna, Sara Wladimirsky y Elsa Baumeister.

“Este recurso es el resultado del financiamiento otorgado por el Estado Nacional, por lo tanto queda sujeto al cumplimiento de la Ley N° 26.899 y la política de gestión del conocimiento de la ANLIS”.



[Este obra está bajo una Licencia Creative Commons Attribution 4.0 International \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

Buenos Aires, 23 de mayo de 2020

Informe de la comparación del uso de hisopado nasofaríngeo-orofaríngeo combinado versus saliva para la detección de genoma de SARSCoV-2 en casos sospechosos de COVID-19.

Laboratorio Nacional de Referencia de Influenza y otros virus respiratorios.
Servicio Virosis Respiratorias, INEI-ANLIS "Dr Carlos G Malbrán"

Debido a la pandemia en curso, a la escasez de insumos para realizar los ensayos diagnósticos y la necesidad de llevar a cabo testeos masivos para establecer de manera dinámica la prevalencia de individuos con capacidad de transmitir la infección se realizó la comparación del uso de la muestra clínica de hisopado nasofaríngeo-orofaríngeo combinado (HNF) con la muestra de saliva (S).

Se estudiaron 284 muestras de HNF y las 284 muestras pareadas correspondientes de S para la detección de SARSCoV-2 en pacientes sospechosos de COVID-19.

Se realizó la extracción de ARN utilizando el sistema comercial QIAmp viral RNA mini kit de QIAGEN. Se utilizó el kit comercial Detection kit for 2019 novel coronavirus (2019nCoV) RNA, PCR Fluorescence Probing, marca DaAnGene y un termociclador ABI 7500 de Applied BioSystem para llevar a cabo la RTPCR en tiempo real.

El aislamiento viral se llevó a cabo en células Vero en condiciones BSL-3. Se utilizaron muestras de HNF y de S recolectadas en el entorno del Programa DETECTAR del Ministerio de salud de la Nación en Barrios Vulnerables de la CABA. Desde el 5 al 16 de mayo de 2020.

Para el análisis estadístico se utilizaron herramientas gráficas, descriptivas y estadísticas de Excel2010 y SPSS V.20. Para el análisis cualitativo de concordancia se realizó el cálculo del índice Kappa, ver tabla 1, el gráfico de Bland Altman para la concordancia de cargas virales. Para la asociación entre positividad y tiempo de evolución se empleó el test Chi cuadrado y el test t para el cálculo de la diferencia de concentración de ARN en ambas muestras.

El % de Positividad en el universo de las muestras de HNF fue 78.17% mientras que en el de las S fue 69.72%. En el 90.14 % (256/284) de las muestras pareadas se obtuvo el mismo resultado ver Tabla 2. La sensibilidad utilizando S fue del 88.3% y la especificidad 96.77%. El índice Kappa que

El índice de concordancia fue del 0.746 (buena). Los VPP y VPN fueron 99.9% y 69,80% respectivamente. Al analizar la variación de Positividad en función del tiempo de evolución de la enfermedad medida con los HNF no se obtuvo diferencia significativa entre el período 0-6 días en comparación al período 7 a 13 días, 88.6% y 85.2% respectivamente, cayendo a 66.7% a partir de los 14 días. En cuanto a la variación de positividad con la S, los valores fueron 77.4%, 77.8% y 33.3% para los mismos períodos de tiempo.

Cabe destacar que en 3 muestras discordantes, HNF no detectable S detectable, el tiempo de evolución de la enfermedad fue de 18 días. En relación a la Sensibilidad del uso de S en función del tiempo, la misma fue del 89.4%, 91.3% y 88.3% en los períodos de tiempo mencionados anteriormente. La comparación de las cargas virales en las muestras positivas de HNF y S mostró una diferencia de $-1.89 \log$ copias, $p < 0.0001$, ver gráfico 1. Se observó una buena concordancia entre los log de las cargas virales de ambas muestras (pocas muestras se ubican por fuera de los 2DS de la diferencia), no obstante la diferencia promedio es importante $-1.89 \log$, IC 95%: $-2.11:1.66$, ver gráfico 2. Por otra parte, se intentó el aislamiento del virus a partir de muestras de S, lográndose amplificar virus en 4 de 9 muestras y con elevados títulos.

Los resultados obtenidos indican que la sensibilidad de la detección de genoma de SARSCoV-2 en S no supera el 90 % pero la especificidad es aceptable, de la misma manera que el VPP, resultados similares a los comunicados por otros grupos de trabajo.

Si bien la concordancia del rendimiento de ambas muestras es buena, índice Kappa 0.746, el VPN resultó ser 68.9%, lo que indica que el 30% de los resultados negativos podrían no ser verdaderos negativos.

En relación a la positividad en función del tiempo, no se observaron diferencias, pero es destacable que se pudo detectar genoma viral en S con período de evolución prolongado, este hallazgo necesita de la verificación con un mayor número de muestras en esas condiciones. Como fue encontrado por otros autores, la carga viral fue inferior al del HNF, a pesar de ello fue posible aislar el virus en cultivos celulares con buen rendimiento, indicando que este material puede ser vehículo del virus.

Las pruebas de diagnóstico para COVID-19 son fundamentales para controlar la pandemia global. Recientemente se ha informado que pacientes que tenían SARS-CoV-2 detectado por RT-PCR en HNF o esputo también tenía SARS-CoV-2 detectable en saliva.

El uso de S tiene varias ventajas en comparación con la recolección de HNF. En particular, el contacto cercano involucrado en la toma del HNF que representa un riesgo para los trabajadores

de la salud mientras que la recolección S puede reducir este riesgo además no requiere el uso de hisopos y demás consumibles, causa menos molestias al paciente y puede ser una muestra útil para la auto-recolección manteniendo pautas de bioseguridad apropiadas.

La sensibilidad y el VPN de la S como muestra diagnóstica son menores que para el HNF aunque en entornos de bajos recursos, de escasez de insumos diagnósticos o muestreos de screening masivos puede constituirse en una alternativa sin dejar de considerar la pérdida de información que podría generarse.

Prof. Magist. Elsa Baumeister

Jefa Servicio Virosis Respiratorias

Lab Nac de Ref Influenza y otros virus respiratorios MSal

Centro Nacional de Influenza de OPS/OMS.

Lab Nac de Ref Sarampión y Rubéola MSal y OPS/OMS

Departamento Virología. INEI-ANLIS "Carlos G. Malbrán".

Prof. Adj. Asignatura Virología Clínica, Facultad de Ciencias Exactas

Universidad Nacional de La Plata.

Bibliografía

1. L. Azzi, G. Carcano and F. Gianfagna et al., Saliva is a reliable tool to detect SARS-CoV-2, *Journal of Infection*, <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.04.005>
2. Williams Eloise, Bond Katherine, Zhang Bowen, Putland Mark, Williamson Deborah A. Saliva as a non-invasive specimen for detection of SARS-CoV-2. *J Clin Microbiol* 2020 Apr 21. <https://doi.org/10.1016/j.jfma.2020.04.030>
3. Kelvin Kai-Wang To et al Consistent Detection of 2019 Novel Coronavirus in Saliva *Clinical Infectious Diseases*, c1aa149, <https://doi.org/10.1093/cid/c1aa149>
4. Wei-Kung Wang,*† Shey-Ying Chen,†, I-Jung Liu,* et al: Detection of SARS associated Coronavirus in Throat Wash and Saliva in Early Diagnosis. *Emerging Infectious Diseases* • www.cdc.gov/eid • Vol. 10, No. 7, July 2004.
5. Anne L. Wyllie, John Fournier , Arnau Casanovas-Massana: Saliva is more sensitive for SARS-CoV-2 detection in COVID-19 patients than nasopharyngeal swabs medRxiv preprint version

posted April 22, 2020. Emerging Infectious Diseases • www.cdc.gov/eid • Vol. 10, No. 7, July 2004 <https://doi.org/10.1101/2020.04.16.20067835>

6. Kelvin Kai-Wang To*, Owen Tak-Yin Tsang*, Wai-Shing Leung et al : Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study www.thelancet.com/infection Vol 20 May 2020. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30196-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30196-1)

Tablas y gráficos

Tabla 1: Valoración del índice Kappa

Valoración del Índice Kappa	
Valor de k	Fuerza de la concordancia
< 0.20	Pobre
0.21 – 0.40	Débil
0.41 – 0.60	Moderada
0.61 – 0.80	Buena
0.81 – 1.00	Muy buena

Tabla 2: Resultados para la detección de SARSCoV-2 según tipo de muestra

	HNF +	HNF -	Totales
S +	196	2	198
S -	26	60	86
Totales	222	62	284

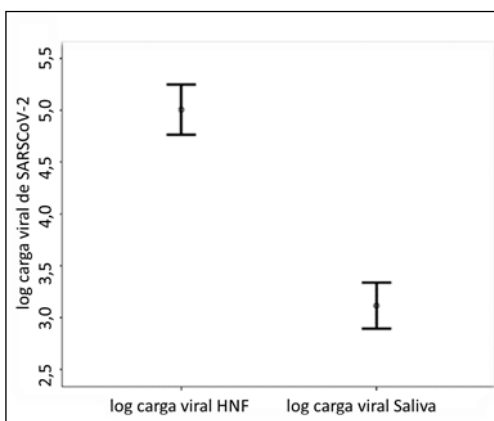


Gráfico 1: Concentración RNA-SARSCoV 2 (Gen N) en muestras de saliva e hisopo

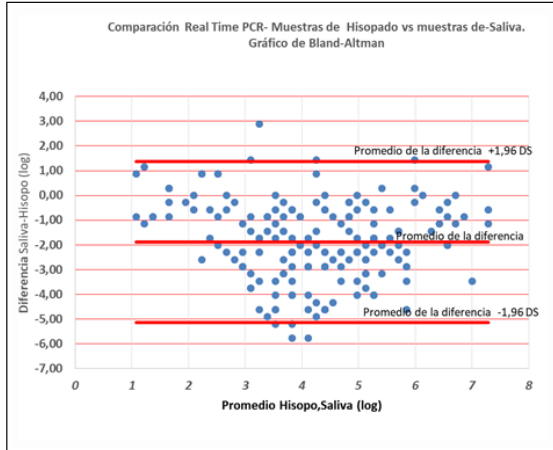


Gráfico 2. Gráfico de Bland Altman. Diferencia de concentración (log) en función del Promedio de concentración (log)