



FACULDADE DE
MEDICINA DENTÁRIA
UNIVERSIDADE DO PORTO

Avaliação da eficácia do diagnóstico molecular de COVID-19 em amostras de saliva versus esfregaço nasofaríngeo: uma revisão sistemática

Laura Pereira Neves Ferreira

**Monografia de Revisão Sistemática
Mestrado Integrado em Medicina Dentária**

Porto, 2021



FACULDADE DE
MEDICINA DENTÁRIA
UNIVERSIDADE DO PORTO

Avaliação da eficácia do diagnóstico molecular de COVID-19 em amostras de saliva versus esfregaço nasofaríngeo: uma revisão sistemática

Laura Pereira Neves Ferreira

Afiliação: Aluna do 5º ano do Mestrado Integrado em Medicina Dentária da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto

Endereço: lpnf.lpnf@gmail.com

Orientador: Professor Doutor Paulo Rui Galvão Ribeiro de Melo

**Monografia de Revisão Sistemática
Mestrado Integrado em Medicina Dentária**

Porto, 2021

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais e irmão, por todo o carinho e apoio incondicional.

Aos meus amigos, que me deram alento nas alturas de maior desespero.

À Carolina, que me acompanhou durante todo o percurso, desde o primeiro dia.

Ao meu orientador, Professor Doutor Paulo Melo, pela paciência e por sempre se mostrar disponível para ajudar.

“Aqueles que passam por nós, não vão sós, não nos deixam sós. Deixam um pouco de si, levam um pouco de nós” (Antoine de Saint-Exupéry).

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABELAS	VI
ÍNDICE DE FIGURAS	VII
RESUMO	IX
ABSTRACT	XI
INTRODUÇÃO	1
MATERIAIS E MÉTODOS	3
PROTOCOLO.....	3
CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE.....	3
PESQUISA	3
SELEÇÃO DE ARTIGOS E EXTRAÇÃO DE DADOS.....	4
RESULTADOS.....	5
AVALIAÇÃO DO RISCO DE VIÉS.....	7
DISCUSSÃO	15
CONCLUSÃO.....	19
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	20
ANEXOS.....	22
ANEXO 1: DECLARAÇÃO DE AUTORIA	23
ANEXO 2: PARECER DO ORIENTADOR	24
ANEXO 3: DECLARAÇÃO REPOSITÓRIO UPORTO.....	25

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Características dos estudos incluídos.	8
Tabela 2: Características das revisões sistemáticas/meta-análises incluídas.	11
Tabela 3: Análise do risco de viés dos estudos caso-controlo.	13
Tabela 4: Avaliação do risco de viés das revisões sistemáticas/meta-análises incluídas.....	14

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Diagrama de fluxo PRISMA.	5
---	---

LISTA DE ABREVIATURAS

COVID-19 – Doença provocada pelo vírus SARS-CoV-2

PRISMA – *Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analysis*

SARS-CoV-2 – *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*

RT-PCR - Transcrição reversa seguida de reação de cadeia de polimerase em tempo real

RT-LAMP – Amplificação isotérmica mediada por *loop* com transcrição reversa

NPS - Esfregaço nasofaríngeo

OPS – Esfregaço orofaríngeo

CT – Limiar de ciclo (*cycle threshold*)

IC – Intervalo de confiança

DTS – Saliva profunda (*deep throat saliva*)

VTM – Meio de transporte viral

PBS - Solução salina tamponada com fosfato

UTM – Meio de transporte universal

VPP – Valor preditivo positivo

VPN – Valor preditivo negativo

EPI – Equipamento de proteção individual

RESUMO

Introdução: A pandemia de COVID-19 levou à procura de novas soluções de diagnóstico molecular de SARS-CoV-2, em alternativa ao esfregaço nasofaríngeo que apresenta várias limitações no contexto atual. Nesse sentido, a saliva poderá ser uma opção vantajosa uma vez que pode ser obtida por auto colheita, permite contornar a escassez de materiais e diminuir o risco de exposição do profissional de saúde na testagem.

Objetivo: Com este estudo pretende-se realizar uma revisão sistemática que compare a eficácia e a pertinência da colheita de saliva como amostra para a deteção molecular de SARS-CoV-2, quando comparada com a zaragatoa nasofaríngea.

Material e métodos: O levantamento bibliográfico foi realizado nas bases de dados PubMed, Scopus e Web of Science. Esta pesquisa seguiu o protocolo de revisão sistemática definido pelo PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses*)(1). Foram selecionados artigos em Português e Inglês, publicados até 15 de março de 2021, referentes à espécie humana, para responder à seguinte questão PICO: “As amostras salivares são tão eficazes quanto as zaragatoas nasofaríngeas para a deteção de SARS-CoV-2 em pacientes?”. Foram incluídos artigos com estudos *in vivo*, nos quais é analisada a viabilidade da deteção de SARS-CoV-2 através de saliva, em comparação com amostras nasofaríngeas, tendo estas como controlo. Foram também considerados estudos com amostras salivares misturadas com secreções faríngeas e muco do trato respiratório inferior (expetoração e saliva profunda). Foram excluídos estudos com amostras constituídas apenas por pacientes infetados por SARS-CoV-2, estudos com múltiplas testagens, bem como estudos nos quais o controlo não é a zaragatoa nasofaríngea. A seleção dos artigos, extração de dados e a avaliação do risco de viés foram realizados por dois revisores (L.F e P.M). Uma síntese narrativa dos estudos foi realizada sem a junção dos dados quantitativos devido à variabilidade da metodologia encontrada.

Desenvolvimento: Partindo de 434 artigos identificados, 14 estudos que cumpriram os critérios de elegibilidade foram incluídos nesta revisão sistemática, dos quais 9 casos-controlo e 5 revisões sistemáticas/meta-análises. Todos os artigos compararam a saliva com o esfregaço nasofaríngeo. Independentemente dos testes realizados, foram encontrados valores de sensibilidade entre os 51,9% e 100%, e especificidades de 89,2% a 99,47% para a saliva.

Conclusões: As amostras salivares podem ser utilizadas no diagnóstico de COVID-19. São especialmente úteis para testagens recorrentes e em massa. No entanto, existem algumas reservas em relação ao seu uso em pacientes assintomáticos ou com baixa carga viral.

Palavras-chave: “SARS-CoV-2”; “*esfregaço nasofaríngeo*”; “*saliva*”; “COVID-19”; “*diagnóstico molecular*”; “*RT-PCR*”; “*revisão sistemática*”.

ABSTRACT

Introduction: The COVID-19 pandemic led to the search for new SARS-CoV-2 molecular diagnostic solutions, as an alternative to the nasopharyngeal swab, which has several limitations in the current context. Therefore, saliva may be an advantageous option as it can be self-collected, obviates supply shortage and reduces the risk of exposure for healthcare workers.

Objectives: This study aims to perform a systematic review to compare the effectiveness and relevance of saliva collection as a sample for molecular detection of SARS-CoV-2 when compared with a nasopharyngeal swab.

Methods: A systematic literature search was performed in the databases PubMed, Scopus and Web of Science. This research followed the systematic review protocol defined by PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses*). (1) Articles written in Portuguese and English, published up to March 15, 2021, relating to the human species were selected, in order to answer the following PICO question: "Are salivary samples as effective as nasopharyngeal swabs for SARS-CoV-2 detection in patients?" In vivo studies in which the feasibility of SARS-CoV-2 detection through saliva was analyzed, in comparison with nasopharyngeal samples, were included, taking these as control. Studies with salivary samples mixed with pharyngeal secretions and mucus from the lower respiratory tract were also considered (sputum and deep throat saliva). Studies with samples consisting of only patients infected with SARS-CoV-2, studies with multiple testing, as well as studies in which the control is not the nasopharyngeal swab were excluded. The selection of articles, data extraction and the risk of bias assessment were carried out by two reviewers (L.F and P.M). A narrative synthesis of the studies was undertaken without adding quantitative data due to the methodological variability found.

Results: From 434 identified articles, 14 studies that met the eligibility criteria were included in this systematic review, of which 9 were control cases and 5 systematic reviews/meta-analysis. All articles compared saliva with nasopharyngeal swabs. Regardless of the tests performed, sensitivity values ranged between 51.9% and 100%, and specificity between 89.2% and 99.47%, in saliva.

Conclusions: Salivary samples can be used in the diagnosis of COVID-19. They are especially useful for recurrent and mass testing. However, there are some concerns regarding its use in asymptomatic patients or those with a low viral load.

Keywords: “SARS-CoV-2”; “*nasopharyngeal swab*”; “*saliva*”; “COVID-19”; “*molecular diagnosis*”; “*RT-PCR*”; “*systematic review*”.

INTRODUÇÃO

O surto de SARS-CoV-2 que veio a originar uma pandemia da doença COVID-19 à escala global trouxe novas implicações em todas as áreas, mas em especial para o setor da saúde. Neste âmbito, o risco de sobrecarga dos serviços hospitalares, decorrente da necessidade de internamento dos casos mais graves infetados por SARS-CoV-2 e da sua elevada transmissibilidade, torna imprescindível a procura por novas soluções de diagnóstico que permitam identificar indivíduos infetados com o máximo de confiança, de modo a conter as cadeias de transmissão e assim travar a propagação do vírus na comunidade. Por este motivo, a testagem em massa da população é essencial no combate à pandemia, enquanto não é possível atingir a desejada imunidade de grupo através da vacinação (2, 3). No entanto, a escassez de material que se associou principalmente à primeira vaga, bem como as dificuldades logísticas associadas ao processo de testagem e os seus elevados custos, têm sido as maiores limitações enfrentadas (3). Estes obstáculos fomentaram a procura de novas soluções de diagnóstico, com o intuito de simplificar a colheita de amostras de pacientes potencialmente infetados e, ao mesmo tempo, zelar pela segurança dos profissionais de saúde, tornando os rastreios tão acessíveis quanto cómodos (4).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), a amplificação de RNA viral por RT-PCR (transcrição reversa seguida de reação de cadeia de polimerase em tempo real) a partir de esfregaço nasofaríngeo (NPS) ou orofaríngeo (OPS) é o *gold standard* para o diagnóstico molecular de COVID-19 (5). Atualmente, estão disponíveis no mercado outros testes para a deteção de SARS-CoV-2, para além dos testes moleculares que têm por base a amplificação de ácidos nucleicos (NAAT) como o RT-PCR ou o RT-LAMP (amplificação isotérmica mediada por *loop* com transcrição reversa). São o caso os testes de antigénio, que detetam proteínas virais, e os testes serológicos que detetam os anticorpos (IgM, IgA, IgG) produzidos em resposta à infeção. Existem ainda testes rápidos, quer de antigénio, quer serológicos que obtêm resultados entre 15 a 30 minutos e não necessitam de processamento laboratorial (6, 7). Contudo, apresentam sensibilidade e especificidade mais variáveis que os testes moleculares (7).

O esfregaço nasofaríngeo é um método considerado invasivo e apresenta várias contraindicações, nomeadamente em pacientes com trombocitopenia severa, desvio do septo nasal, trauma/cirurgia nasal recente e sob terapia anticoagulante (3, 8). Este procedimento apresenta ainda mais dificuldades quando efetuado em crianças ou idosos e pode causar epistaxis, irritação da faringe, ulceração da camada mucosa, mas também induzir tosse ou espirros, aumentando o risco de contágio (7, 9-11).

A colheita de saliva representa uma alternativa tecnicamente mais simples ao convencional esfregaço nasofaríngeo. É um método minimamente invasivo, mais rápido e mais confortável para o paciente (12, 13). Por outro lado, poderá ainda permitir a auto colheita de amostras, sem intervenção direta de profissionais de saúde especializados, o que permitiria reduzir drasticamente o risco de exposição destes e tornar a testagem menos dispendiosa (12). Ademais, este tipo de amostra diminui o uso de material de proteção individual e prescinde de meio de transporte viral/universal, assim como de zaragatoas - materiais escassos no decorrer desta pandemia devido à elevada demanda (14, 15).

Nesse sentido, o uso de saliva em alternativa ao esfregaço nasofaríngeo poderá ser uma opção com inúmeras vantagens (16).

Estudos realizados mostraram uma taxa de concordância superior a 90% entre a saliva e o NPS (10, 17, 18). No entanto, os resultados são inconsistentes e maioritariamente provenientes de amostras reduzidas (11, 19-21). Por este motivo, é crucial perceber se este tipo de amostragem permite níveis de sensibilidade e especificidade semelhantes ao da clássica zaragatoa no diagnóstico molecular de COVID-19.

Objetivo: Com este estudo pretende-se realizar uma revisão sistemática que compare a eficácia e a pertinência da colheita de saliva como amostra para a deteção molecular do novo coronavírus, quando comparada com a zaragatoa nasofaríngea que é atualmente o método padrão para o diagnóstico de COVID-19.

MATERIAIS E MÉTODOS

Protocolo

Esta revisão sistemática segue as recomendações PRISMA (“Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis”). (1)

Foi formulada a seguinte pergunta PICO de acordo com a População, Intervenção, Comparação e *Outcome*: As amostras salivares (I) são tão eficazes quanto as zaragatoas nasofaríngeas (C) para a detecção de SARS-CoV-2 (O) em pacientes (P)?

Critérios de Elegibilidade

Foram incluídos artigos de estudos *in vivo*, publicados em português e inglês, cujo texto se encontrava disponível na íntegra e nos quais é analisada a viabilidade da detecção de SARS-CoV-2 através de saliva em comparação com amostras nasofaríngeas, tendo estas como controlo. Foram eleitos artigos publicados até 15 de março de 2021, do tipo ensaio clínico randomizado, meta-análise, estudo caso-controlo ou revisão sistemática.

Foram também consideradas amostras salivares misturadas com secreções faríngeas e muco do trato respiratório inferior: expetoração e saliva profunda (DTS)(11).

Foram excluídos artigos de revisão literária ou opinião, cartas ao editor, “short communications”, pré-publicações, estudos em animais, artigos incompletos, estudos com amostras constituídas apenas por pacientes infetados por SARS-CoV-2, estudos com múltiplas testagens, bem como estudos nos quais o controlo não é a zaragatoa nasofaríngea.

Pesquisa

Entre dezembro de 2020 e março de 2021, foi realizada uma pesquisa sistemática em bases de dados eletrónicas, nomeadamente na Pubmed, Scopus e Web of Science. Foram utilizados os operadores booleanos “AND” e “OR” com a seguinte combinação de palavras-chave – (SARS-CoV-2 OR COVID-19) AND saliva AND “nasopharyngeal swab”. Foram definidos filtros de acordo com o tipo de artigo, de modo a excluir livros, revisões bibliográficas e outros documentos, bem como estudos não humanos, limitando os idiomas ao português e inglês.

Esta estratégia foi inicialmente desenvolvida para pesquisa na Pubmed, tendo depois sido adaptada às restantes bases de dados.

Finalizado este processo, os resultados obtidos foram então exportados para uma biblioteca digital através do gestor de referências Endnote 20, tendo sido removidos os artigos duplicados.

Foram ainda revistas as referências dos artigos selecionados a fim de identificar possíveis artigos relevantes que não tivessem sido detetados através da pesquisa inicial.

Seleção de artigos e extração de dados

Primeiramente, os artigos foram rastreados por título e depois pelo resumo, tendo finalmente sido revistos na versão integral de modo a verificar o cumprimento dos critérios de elegibilidade. Em caso de dúvida foi alcançado um consenso entre os dois revisores (L.F. e P.M).

Foram recolhidos dados relevantes dos artigos selecionados como autor, tamanho da amostra, sexo e idade média dos participantes, métodos de colheita das amostras, processamento e resultados obtidos.

Avaliação do Risco de Viés

A qualidade metodológica dos estudos incluídos foi avaliada de forma independente e consensual pelos dois revisores (L.F. e P.M.) através da ferramenta de avaliação publicada pelo National Institutes of Health (22). Este instrumento analisa o risco de viés de estudos do tipo caso-controlo através de uma checklist com 12 itens. Os artigos foram classificados como “baixo risco”, “médio risco” ou “elevado risco”, de acordo com as respostas obtidas a estas questões. No caso das revisões sistemáticas e meta-análises, foi utilizada uma outra checklist com 8 questões específicas.

RESULTADOS

Foi obtido um total de 468 artigos na pesquisa inicial nas bases de dados eletrônicas (3 na Pubmed, 426 na Scopus e 39 na Web of Science). Foi ainda adicionado um artigo que não constou nesta pesquisa. Após remoção dos duplicados, restaram 434 artigos, dos quais 358 foram excluídos pelo título. De seguida, foram analisados os resumos, tendo sido excluídos 39 artigos. Foram considerados 37 para leitura integral e aplicação dos critérios de elegibilidade. Destes, foram selecionados 14 estudos - 9 estudos caso-controlo (2, 10, 13, 14, 17, 23-26) e 5 revisões sistemáticas e/ou meta-análises (9, 21, 27, 28). A figura 1 ilustra o diagrama de fluxo PRISMA para a seleção de artigos (1).

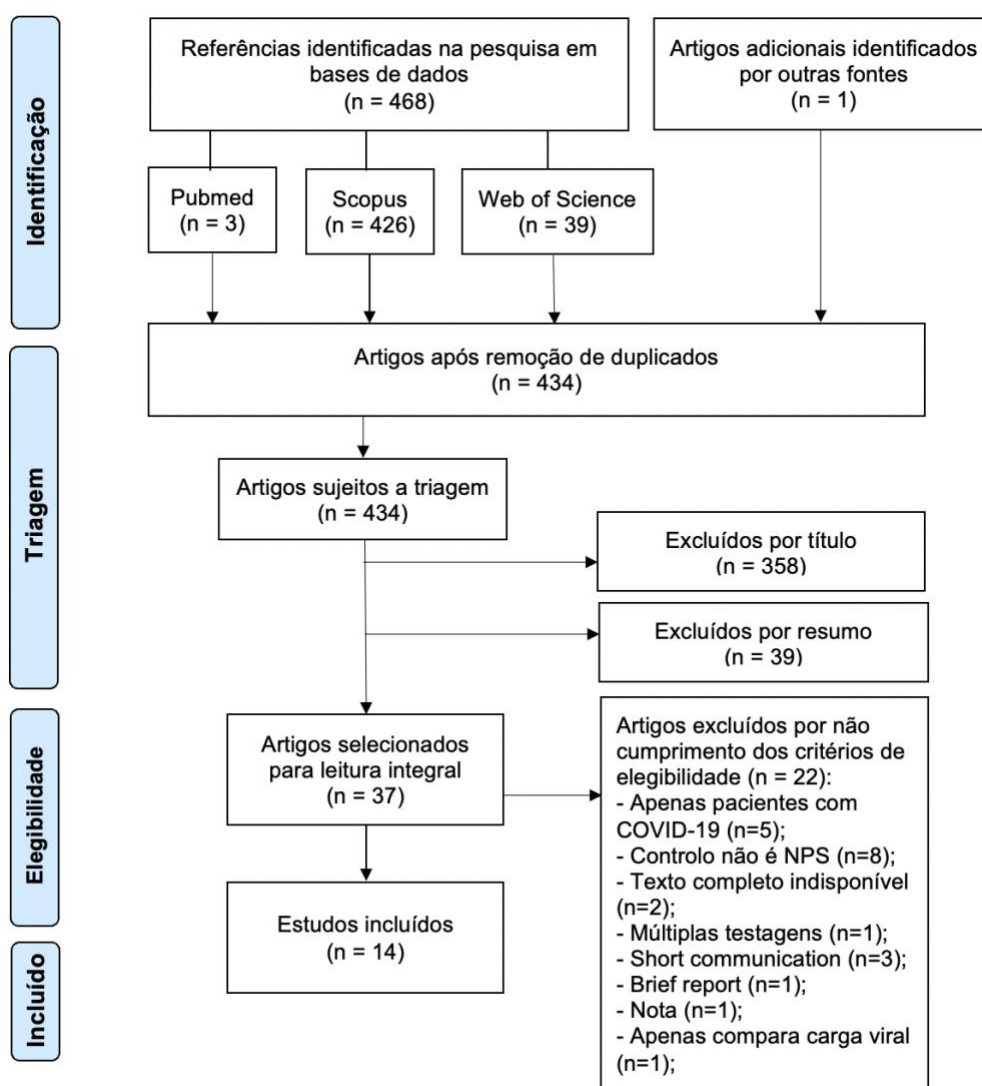


Figura 1: Diagrama de fluxo PRISMA.

Os principais aspetos e resultados dos artigos incluídos nesta revisão sistemática encontram-se nas tabelas 1 e 2.

Todos os estudos contaram com uma amostra de NPS colhida por um profissional de saúde especializado e colocada num tubo estéril com meio de transporte viral (VTM), solução salina a 0,9%, solução salina tamponada com fosfato (PBS) ou meio de transporte universal (UTM). Por outro lado, as amostras salivares foram obtidas por auto colheita, seguindo indicações previamente anunciadas e sem adição de meio de transporte. Procop *et al.* (25) usou saliva aprimorada: pediu aos participantes que reunissem secreções nasais e muco na orofaringe, e que tossissem para recolher expetoração, juntamente com saliva. Babady *et al.* (26) e Rao *et al.* (10) testaram DTS proveniente da orofaringe, enquanto que Altawalah *et al.* (23) apenas pediram aos participantes que tossissem vigorosamente antes da colheita. Os restantes estudos analisaram saliva acumulada na cavidade oral, sem estimulação nem tosse, e depois cuspidada para um tubo estéril (2, 13, 14, 17). Um dos artigos não referia qual o protocolo de colheita de saliva (24).

Em relação às condições de obtenção das amostras, Trobajo-Sanmartín *et al.* (14) e Senok *et al.* (17) pediram aos participantes que evitassem comer e beber uma hora antes da colheita, sendo que o segundo pediu ainda que não fumassem. Rao *et al.* (10) pediram também que não escovassem os dentes e Herrera *et al.* que não enxaguassem a cavidade oral. A supervisão da recolha de saliva por um avaliador foi feita exclusivamente no estudo de Hanson *et al.* (13).

Posteriormente, as amostras foram conservadas à temperatura ambiente, a 4°C ou congeladas a -80°C até processamento. Três estudos não possuíam informação sobre a temperatura de conservação (2, 23, 24).

Em dois artigos (10, 17) foi utilizada saliva não modificada enquanto que Trobajo-Sanmartín *et al.* (14) decidiram diluir algumas das amostras salivares com solução de lise (1:3) e Güçlü *et al.* diluíram com água tipo-1 (1:1), de modo a otimizar o isolamento de RNA viral. Nos restantes casos, as amostras salivares consideradas viscosas sofreram diluições com PBS, UTM, VTM ou ditiotretitol a 0,5%.

A extração de RNA viral, por sua vez, foi feita de forma automatizada em todos os estudos e recorrendo a diferentes kits, à exceção de um que não possuía esta

informação. Da mesma forma, cada estudo utilizou kits comerciais distintos para a detecção de SARS-CoV-2. As sequências alvo amplificadas correspondem aos genes que codificam para a nucleoproteína (N), o invólucro (E), a espícula (S), a RNA dependente RNA polimerase (RdRp) ou poliproteínas não estruturais (ORF1ab), sendo que a maior parte dos estudos apenas utiliza uma ou duas destas sequências (6).

Todos os autores calcularam a especificidade e sensibilidade da saliva tendo o NPS como controlo, à exceção de Hanson *et al.* (13) que apenas relatam a concordância positiva e negativa (93,8% e 97,8%, respetivamente), e Rao *et al.* (10) que não apresentam qualquer valor. Güçlü *et al.* (24) obtiveram ainda um valor preditivo positivo (VPP) de 85,2% e um valor preditivo negativo (VPN) de 89,2%, enquanto que no caso de Senok *et al.* (17), estes valores foram 67,9% e 98,1%, respetivamente. Herrera *et al.* (2) determinaram um VPP de 93,2% e um VPN de 98,2%.

Todos os estudos fizeram a análise da carga viral (através dos valores de Ct) na saliva e compararam com a do NPS. Alguns avaliaram ainda a necessidade de adição de meio de transporte ou outras soluções para o processamento das amostras.

Avaliação do Risco de Viés

Os resultados da análise do risco de enviesamento de cada um dos artigos incluídos são apresentados nas tabelas 3 e 4. De entre os 14 artigos incluídos, 8 foram considerados de baixo risco (9, 11, 17, 21, 23, 24, 26, 27) e 5 de risco médio (2, 10, 13, 14, 28). Apenas um dos estudos foi classificado como de risco elevado (25).

Tabela 1: Características dos estudos incluídos.

Autor Ano	Tipo de Estudo	N Idade Média (anos) Sexo	Sintomas	Colheita de Saliva	Genes alvo	Sens. Esp. (%)	Kappa de Cohen	Conclusões
Hanson et al. 2020 (13)	Caso- controle	354 35 (18-75) † 47% F 53% M	Sintomáticos	Saliva não estimulada (sem tossir) Com supervisão TA: 4°C	NI	NI	0,912	A saliva teve um desempenho semelhante ao NPS na detecção de SARS-CoV-2 em pacientes sintomáticos e é um método aceitável, especialmente perante escassez de zaragatoas ou EPI.
Rao et al. 2020 (10)	Caso- controle	217 27 (18-36) † 100% M	Assintomáticos	DTS Sem comer, beber ou escovar os dentes TA: ambiente	E RdRp	NI	0,260	A saliva apresentou uma taxa de detecção superior ao NPS, bem como uma carga viral mais elevada. Concluiu-se que é uma alternativa melhor para a detecção de SARS-CoV-2.
Procop et al. 2020 (25)	Caso- controle	216 44 (18-82) † NI	Sintomáticos	Saliva aprimorada TA: refrigerado	N1 N2 N3	100 99,4	NI	A saliva teve um desempenho semelhante ao NPS na detecção de SARS-CoV-2 em pacientes sintomáticos. Contudo, a carga viral encontrada na saliva foi, de modo geral, menor.

Tabela 1: Continuação.

Autor Ano	Tipo de Estudo	N Idade Média (anos) Sexo	Sintomas	Colheita de Saliva	Genes alvo	Sens. Esp. (%)	Kappa de Cohen	Conclusões
Güçlü et al. 2020 (24)	Caso- controle	64 51.04 ±17.9 * 42,2 % F 57,8% M	Sintomáticos	NI	NI	85,2 89,2	0,744	As amostras de saliva podem ser utilizadas para a detecção de SARS-CoV-2 em alternativa ao NPS. É um método mais económico, mais simples e com menos risco associado.
Senok et al. 2020 (17)	Caso- controle	401 35,5 ± 9,5 * 12% F 82% M	48,6% Assintomáticos	Saliva não estimulada (sem tossir) 1 hora sem comer, beber ou fumar TA: ambiente	RdRp N	73,1 97,6	0,68	A saliva permite um diagnóstico preciso e a sua utilização sem um meio de transporte provou ser viável.
Babady et al. 2021 (26)	Caso- controle	87 NI	Sintomáticos e Assintomáticos	DTS TA: ambiente	N1 N2	94,1 98,6	0,93	A saliva é uma alternativa comparável ao NPS para a detecção de SARS-CoV-2, com a vantagem de poder ser amplamente difundida e contornar a escassez de materiais.

(Continua na página seguinte)

Tabela 1: Continuação.

Autor Ano	Tipo de Estudo	N Idade Média (anos) Sexo	Sintomas	Colheita de Saliva	Genes alvo	Sens. Esp. (%)	Kappa de Cohen	Conclusões
Herrera et al. 2021 (2)	Caso- controle	2107 NI	Assintomáticos	Saliva não estimulada (sem tossir) Sem enxaguar antes TA: NI	N1 N2	80,35 99,47	0,727 – 0,852	A saliva é tão eficaz quanto o NPS na detecção de pacientes assintomáticos infectados por SARS-CoV-2.
Trobajo- Sanmartín et al. 2021 (14)	Caso- controle	674 36 ± 19 * 55,5% F 44,5% M	333 (49,4%) Sintomáticos 341 (50,6%) Assintomáticos	Saliva não estimulada (sem tossir) 1 hora sem comer, beber ou cuspir TA: Ambiente e depois congeladas a -80°C	E	51,9 99,1	0,50	Devido à sua baixa sensibilidade, a saliva não deve substituir o NPS no diagnóstico hospitalar e em pacientes com contactos de alto risco. No entanto, é uma boa alternativa para testagem em massa.
Altawalah et al. 2020 (23)	Caso- controle	891 NI	NI	Saliva (com tosse) NI	ORF1ab N S	83,43 96,71	0,814	A saliva apresenta um desempenho comparável ao do NPS. É uma alternativa promissora que poderá acelerar o diagnóstico de COVID-19.

N = tamanho da amostra; Sens. = sensibilidade; Esp. = especificidade; F = feminino; M = masculino; TA = temperatura de armazenamento; NI = não identificado; EPI = equipamento de proteção individual; DTS = saliva profunda; NPS = esfregaço nasofaríngeo.

† Amplitude interquartil
* Média ± desvio padrão

Tabela 2: Características das revisões sistemáticas/meta-análises incluídas.

Autor	Bases de dados	Amostra	CrITÉrios Seleção	Resultados	Conclusões
Cañete et al. 2021 (9)	PubMed Cochrane EBSCO Elsevier MEDLINE dezembro 2019 – outubro 2020	7630 pacientes testados; Apenas 16 estudos registaram sexo: 1205 F 1390 M Idade média: 55,6 anos (18-106) †	Foram incluídos relatos de caso e séries de casos que avaliam a saliva como amostra para detecção de SARS-CoV-2, escritos em inglês e com texto integral disponível.	Este estudo incluiu 22 artigos dos quais 17 séries de casos, 2 relatos de caso e 3 testagens em massa. Todos compararam saliva com NPS. Verificou-se uma taxa de detecção semelhante em ambas as amostras, com uma sensibilidade de 20-97% e uma especificidade de 66-100% na saliva.	As amostras de saliva podem ser uma amostra apropriada, rápida, indolor, simples e não invasiva, tornando-as ideais para testagem em massa.
Nasiri et al. 2021 (28)	Cochrane Google Scholar LILACS dezembro 2019 – outubro 2020	2608 pacientes testados; Apenas 7 estudos registaram sexo: 427 F 590 M	Foram incluídos estudos que comparam a detecção de COVID-19 através de saliva e NPS, escritos em inglês e com texto integral disponível. Foram excluídos artigos de revisão e estudos sem resultados ou informação imprecisa.	Este estudo incluiu 14 artigos. Não foi encontrada uma diferença estatisticamente significativa entre a saliva e o NPS no diagnóstico de COVID-19. Foi obtido um valor de I ² de 5,790% (<20%) no teste de heterogeneidade. A proporção de risco foi de 0,951 (<1).	São necessários mais estudos. No entanto, a saliva é mais adequada do que o NPS para testagem em massa uma vez que a sua colheita é simples e não necessita de profissionais de saúde especializados.
Butler-Laporte et al. 2021 (27)	PubMed/ MEDLINE MedRxiv 29/08/2020	5922 pacientes testados, dos quais 941 positivos e 4981 com resultados negativos concordantes	Foram excluídos artigos sem amostras aleatórias ou consecutivas, com menos de 20 participantes e do tipo caso-controlo.	Incluídos 16 artigos: 8 artigos do tipo pré-publicação e 8 artigos revistos por pares. Na análise primária, verificou-se uma sensibilidade de 83,2% e uma especificidade de 99,2% na saliva. Em relação ao NPS, a sensibilidade foi de 84,8% e a especificidade 98,9%. Foram obtidos resultados semelhantes na análise secundária.	Os resultados sugerem que a fiabilidade do diagnóstico de COVID-19 é semelhante em amostras salivares e NPS, especialmente em regime ambulatorio. Restam algumas questões em relação a pacientes hospitalizados ou com doença grave.

Tabela 2: Continuação.

Autor	Bases de dados	Amostra	Critérios Seleção	Resultados	Conclusões
Riccò et al. 2020 (21)	PubMed/ MEDLINE EMBASE MedRxiv Até 01/06/2020	Incluídas 1118 amostras, das quais 376 positivas e 742 negativas para a presença de SARS-CoV-2	Foram incluídos artigos em inglês, italiano, alemão e espanhol, com casos de COVID-19 diagnosticados por RT-PCR em NPS, artigos nos quais é analisada saliva por RT-PCR e artigos nos quais é reportado o número de verdadeiros positivos/negativos e de falsos positivos/negativos.	Foram incluídos 14 artigos nesta meta-análise. Foram encontradas uma sensibilidade agrupada de 83,4% e uma especificidade agrupada de 97,7% na saliva, com um intervalo de confiança de 95%. O valor de k obtido foi de 0,750, o que traduz concordância moderada.	O uso de amostras salivares para diagnóstico de casos suspeitos de COVID-19 é questionável e não pode substituir o convencional NPS. Devido às limitações deste estudo, é necessária mais investigação neste campo.
Moreira et al. 2021 (11)	PubMed Web of Science ClinicalTrial.gov NIPH Clinical Trial Até 30/12/20	Incluídos 6068 participantes, dos quais 1300 positivos. 6 estudos não referem o número de infectados.	Foram incluídos estudos observacionais, nos quais é feita a detecção de SARS-CoV-2 por RT-PCR, estudos que reportam o número de casos positivos e negativos e/ou valores Ct em comparação com NPS e/ou OPS.	Foram incluídos 33 artigos. A saliva apresentou uma sensibilidade estimada de 83,9% e uma especificidade de 96,4% enquanto que, para a DTS estes valores foram de 90,1% e 63,1%, respetivamente.	A saliva é uma alternativa promissora e pode aumentar a capacidade de testagem. Contudo, é necessário definir práticas adequadas pelo que devem ser feitos estudos adicionais.

F = feminino; M = masculino; DTS = saliva profunda; NPS = esfregaço nasofaríngeo; k = Kappa de Cohen; OPS = esfregaço orofaríngeo.

† Amplitude interquartil

Tabela 3: Análise do risco de viés dos estudos caso-controle.

	Hanson <i>et al.</i>	Rao <i>et al.</i>	Procop <i>et al.</i>	Güçlü <i>et al.</i>	Babady <i>et al.</i>	Senok <i>et al.</i>	Herrera <i>et al.</i>	Trobajo-Sanmartín <i>et al.</i>	Altawalah <i>et al.</i>
1. A pergunta ou objetivo da pesquisa neste artigo foi claramente estabelecida e é apropriada?	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
2. A população do estudo foi claramente especificada e definida?	Não	Não	Não	Sim	Sim	Sim	Não	Não	Sim
3. Os autores incluíram uma justificação para o tamanho da amostra?	Não	Não	Não	Não	Não	Sim	Não	Não	Não
4. Os controles foram selecionados ou recrutados na mesma população ou similar à que deu origem aos casos (no mesmo período de tempo)?	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
5. As definições, critérios de inclusão e exclusão, algoritmos ou processos usados para identificar ou selecionar casos e controles foram válidos, confiáveis e implementados de forma consistente em todos os participantes do estudo?	Sim	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
6. Os casos foram claramente definidos e diferenciados dos controles?	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
7. Se menos de 100% dos casos e/ou controles elegíveis foram selecionados para o estudo, estes foram selecionados aleatoriamente?	NA	NA	NA	NR	NR	NA	NA	NA	NA
8. Houve uso de controles simultâneos?	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não
9. Os investigadores foram capazes de confirmar que a exposição / risco ocorreu antes do desenvolvimento da condição ou evento que definiu um participante como um caso?	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
10. As medidas de exposição/risco foram claramente definidas, válidas, confiáveis e implementadas de forma consistente (no mesmo período de tempo) em todos os participantes do estudo?	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
11. O status de caso ou controle dos participantes foi ocultado dos avaliadores de exposição/risco?	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
12. As principais potenciais variáveis de confusão foram medidas e ajustadas estatisticamente nas análises? Se a correspondência foi usada, foi tida em consideração durante a análise do estudo?	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não

NA: não aplicável; NR: não reportado

Tabela 4: Avaliação do risco de viés das revisões sistemáticas/meta-análises incluídas.

	Cañete <i>et al.</i>	Nasiri <i>et al.</i>	Butler- Laporte <i>et al.</i>	Riccò <i>et al.</i>	Moreira <i>et al.</i>
1. A revisão é baseada numa questão focada adequadamente formulada e descrita?	Sim	Sim	Sim	Não	Sim
2. Os critérios de elegibilidade para estudos incluídos e excluídos foram predefinidos e especificados?	Não	Sim	Sim	Sim	Sim
3. A estratégia de busca da literatura usou uma abordagem abrangente e sistemática?	Sim	Não	Sim	Sim	Não
4. Os títulos, resumos e textos completos foram revistos dupla e independentemente para inclusão e exclusão para minimizar o viés?	Sim	Não	Sim	Sim	Sim
5. A qualidade de cada estudo incluído foi avaliada independentemente por dois ou mais revisores usando um método padrão para avaliar a sua validade interna?	Não	Não	Sim	Não	Sim
6. Os estudos incluídos foram listados com as características e resultados mais importantes de cada estudo?	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
7. O viés de publicação foi avaliado?	Não	Não	Não	Sim	Não
8. A heterogeneidade foi avaliada?	NA	Sim	Não	Sim	Não

NA = não aplicável.

DISCUSSÃO

A testagem em massa é uma das principais recomendações para o controlo da pandemia e levantamento de restrições. Neste momento, o método de eleição para o diagnóstico molecular de COVID-19 é a amplificação de RNA viral por RT-PCR, a partir de exsudado nasofaríngeo (5). No entanto, a saliva apresenta inúmeras vantagens e pode ser uma alternativa viável. De facto, este tipo de amostra já tem vindo a ser utilizada na deteção de várias infeções virais como o dengue, Febre do Nilo Ocidental, Ébola, Chikungunya, Zika e febre amarela (21, 28). Várias revisões sistemáticas e meta-análises já publicadas apontam para uma eficácia semelhante entre ambas as amostras em pacientes sintomáticos e com elevada carga viral (9).

A origem do vírus na saliva ainda não é conhecida. No entanto, são colocadas várias hipóteses, como a existência de detritos epiteliais da nasofaringe ou cópias virais secretadas a partir do plasma sanguíneo. De acordo com Rao *et al.* (10), as glândulas salivares e a língua poderão ser os principais locais de replicação viral do SARS-CoV-2, já que os seus epitélios expressam elevada quantidade de recetores para a enzima conversora da angiotensina II (ECA2), aos quais este vírus se liga, o que pode explicar a elevada carga viral encontrada na saliva (9). Por outro lado, Güçlü *et al.* (24) coloca a possibilidade de algumas enzimas presentes na cavidade oral inibirem a replicação do vírus.

A saliva é uma amostra não invasiva, que evita desconforto e que pode ser facilmente obtida por auto colheita, tornando-a ideal para a população pediátrica e idosa, ou quando existem contraindicações à realização de NPS (10). No caso de pacientes impossibilitados de cooperar (hospitalizados ou intubados), pode ainda ser feita a pipetagem de secreções da cavidade oral. Deste modo, permite uma diminuição do risco de transmissão aos profissionais de saúde, ao eliminar a necessidade de grande proximidade física com os pacientes, mas também ao evitar o reflexo de espirro ou tosse inerente à estimulação da oro/nasofaringe (24). Permite ainda uma redução no gasto de material de colheita e de proteção individual que conduz a uma economia significativa de todo o processo de testagem. Foi calculada uma redução de até 40% nos gastos e uma redução de 20% em pessoal ao utilizar este método, em alternativa ao convencional NPS (27). Por outro lado, vários autores referem que este tipo de amostra permite

ainda contornar o problema da escassez de VTM e zaragatoas (25). Senok *et al.* (17) e Herrera *et al.* (2), em concordância com os restantes estudos, demonstraram a viabilidade do uso de saliva sem qualquer meio de transporte. Do mesmo modo, Trabajo-Sanmartín *et al.* (14) concluíram que não existe uma diferença estatisticamente significativa entre a adição ou não de tampão de lise pelo que o tratamento das amostras parece não afetar os resultados. Ainda assim, outro estudo aponta algumas limitações à saliva, nomeadamente a necessidade de uma cuidadosa preparação antes do seu processamento por RT-PCR (23). Para além disso, é também reportado por vários autores um maior número de resultados inconclusivos, o que pode estar relacionado com o facto de a viscosidade das amostras salivares afetar a pipetagem automatizada e/ou inibição do controlo interno (10, 23).

No que concerne o processamento laboratorial, foram usados diferentes kits comerciais por cada autor, quer para extração de RNA viral, quer para a deteção de SARS-CoV-2, pelo que se optou por não os discriminar individualmente. De modo geral, em nenhuma das amostras foi possível identificar todos os casos positivos. Contudo, Babady *et al.* (26) e Rao *et al.* (10) verificaram que a saliva apresenta taxas de deteção iguais ou superiores ao NPS. Foram ainda obtidos valores elevados de VPP e VPN. Foi apresentando um valor inferior de VPP por Senok *et al.* (17) que poderá eventualmente ser explicado por uma maior prevalência da doença na população de estudo ou elevada heterogeneidade da mesma.

Já os valores de sensibilidade oscilaram entre 51,9% e 100%, enquanto que a especificidade calculada foi de 89,2% a 99,47%. Estas percentagens foram obtidas tendo como referência o NPS, à exceção de Hanson *et al.* (13) que apenas apresentou a concordância positiva e negativa entre ambas as amostras, já que considerou que a inexistência de um padrão de referência externa impossibilitava este tipo de cálculos. No presente estudo, foram excluídos artigos cuja amostra era constituída apenas por pacientes infetados uma vez que, desta forma, não seria possível obter valores de especificidade. No entanto, algumas revisões sistemáticas/meta-análises incluídas englobaram artigos com estas características.

De modo geral, valores superiores de sensibilidade parecem estar associados a casos mais severos da doença, o que pode indicar uma maior carga viral nestes

indivíduos (17). Alguns autores afirmam que as amostras salivares não são adequadas para diagnóstico em meio hospitalar ou em pacientes com contactos de elevado risco, uma vez que a capacidade de detetar casos de infeção numa população aparentemente saudável se revela especialmente importante neste contexto (14, 25). Ainda assim, Trobajo-Sanmartín *et al.* (14) não encontraram uma diferença estatisticamente significativa entre a sensibilidade obtida em assintomáticos e sintomáticos. A possibilidade de existência de uma maior quantidade de RNA viral na saliva também não é consensual. Foram detetados valores de Ct inferiores no NPS em alguns dos estudos (14, 24, 25).

O risco de transmissibilidade é superior em indivíduos com elevada carga viral (14). De facto, valores elevados de Ct podem permanecer por longos períodos de tempo mesmo após a doença, mas a infecciosidade destes indivíduos é questionável. Aliás, de acordo com Butler-Laporte *et al.* (27), um teste salivar pode permanecer positivo por um período de tempo superior ao NPS. Assim sendo, o risco de não identificar um destes casos terá menor impacto epidemiológico no controlo da pandemia (14).

No que diz respeito ao transporte e armazenamento das amostras, a maioria dos autores concorda que estas devem ser refrigeradas a 4°C. Babady *et al.* (26) concluíram que a saliva se mantém estável até 24 horas, a esta temperatura ou mesmo à temperatura ambiente. Como já foi referido anteriormente, pode ser dispensada a adição de qualquer meio de transporte, uma vez que não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas (2, 17). Herrera *et al.* (2) sugere que o processamento deve ser feito até 4 dias após colheita. É ainda recomendável que os pacientes evitem comer, beber ou lavar os dentes antes da colheita. Apesar de, por motivos logísticos, a maior parte dos estudos incluídos não ter avaliado saliva obtida logo ao início da manhã, esta parece ser a altura do dia ideal para recolher amostras, de acordo com Cañete *et al.* (9). Por fim, a extração de RNA viral e a deteção de SARS-CoV-2 por RT-PCR podem ser feitas utilizando um qualquer kit comercial devidamente aprovado e validado para o efeito.

De modo geral, os resultados obtidos nesta dissertação estão em concordância com as revisões sistemáticas seleccionadas, salvo alguns aspetos que geraram discordância entre os autores e que foram devidamente enunciados nos parágrafos anteriores. Não foram tidas em consideração outras variáveis como

a severidade da doença, tempo de progressão da mesma, *pooling* de amostras, a hora de colheita ou a comparação com outro tipo de espécimes pelo que serão necessários estudos adicionais para averiguar até que ponto estes fatores influenciam a fiabilidade da saliva como amostra para a deteção de SARS-CoV-2.

Pontos fortes e limitações

A questão PICO traduz uma problemática clinicamente relevante e de extrema pertinência no contexto atual. Foi seguido um protocolo rigoroso e a pesquisa efetuada foi sensível uma vez que apenas um artigo mais foi identificado a partir da análise das referências dos estudos incluídos. Para além disto, apenas artigos publicados em revistas científicas e sujeitos a revisão por pares foram admitidos.

Contudo, esta revisão sistemática enfrenta algumas limitações, como a heterogeneidade das populações de estudo e metodologias, já que foram usados protocolos de colheita de saliva distintos, tanto em participantes sintomáticos como assintomáticos, em diferentes alturas do dia e estadios na evolução da doença. No que diz respeito à amostra, nem todos os grupos etários foram representados de igual forma, pelo que é necessária investigação adicional sobre a viabilidade das amostras salivares em crianças e idosos, não sendo possível extrapolar uma conclusão a partir dos resultados obtidos.

Vários estudos apresentaram amostras reduzidas, sendo que nem todos utilizaram o mesmo kit de teste comercial, nem detetaram os mesmos genes alvo virais. Por fim, o controlo utilizado (NPS) não é perfeito e não apresenta 100% de especificidade e sensibilidade, o que pode levar a resultados enviesados devido à ocorrência de falsos positivos ou falsos negativos.

CONCLUSÃO

As amostras salivares podem ser utilizadas no diagnóstico de COVID-19. São especialmente vantajosas para testagens recorrentes e em massa, como em escolas, lares, aeroportos, empresas, entre outros (9). Permitem uma colheita mais simples e confortável, com elevados níveis de sensibilidade e especificidade.

Ainda assim, existem algumas reservas em relação ao seu uso em pacientes assintomáticos ou com baixa carga viral pelo que, em ambiente hospitalar, não devem substituir o NPS (14, 25). No entanto, na impossibilidade de usar este método *gold standard*, a saliva poderá ser um valioso substituto. Adicionalmente não são conclusivos os resultados referentes a crianças e idosos.

Existem ainda muitas incertezas devido à elevada heterogeneidade dos estudos já realizados e ao reduzido tamanho das amostras, fatores esses que constituem as principais limitações desta revisão sistemática. Tratando-se de uma problemática recente, existe ainda uma quantidade bastante limitada de informação sobre o tema pelo que são necessários estudos adicionais, principalmente englobando outro tipo de população como os idosos e as crianças.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Moher D LA, Tetzlaff J, Altman DG. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. *PLoS Med* 6(7): e1000097. 2009.
2. Herrera LA, Hidalgo-Miranda A, Reynoso-Noverón N, Meneses-García AA, Mendoza-Vargas A, Reyes-Grajeda JP, et al. Saliva is a reliable and accessible source for the detection of SARS-CoV-2. *International Journal of Infectious Diseases*. 2021;105:83-90.
3. Czumbel LM, Kiss S, Farkas N, Mandel I, Hegyi A, Nagy A, et al. Saliva as a Candidate for COVID-19 Diagnostic Testing: A Meta-Analysis. *Frontiers in Medicine*. 2020;7.
4. Chen JHK, Yip CCY, Poon RWS, Chan KH, Cheng VCC, Hung IFN, et al. Evaluating the use of posterior oropharyngeal saliva in a point-of-care assay for the detection of SARS-CoV-2. *Emerging Microbes & Infections*. 2020;9(1):1356-9.
5. Organization WH. Clinical management of severe acute respiratory infection (SARI) when COVID-19 disease is suspected. Interim guidance. *Pediatrics i Medycyna Rodzinna*. 2020;16:9-26.
6. Magalhães S. SARS-CoV-2: Diagnóstico Laboratorial. *Acta Farmacêutica Portuguesa*. 2020;9:32-7.
7. Azzi L, Maurino V, Baj A, Dani M, d'Aiuto A, Fasano M, et al. Diagnostic Salivary Tests for SARS-CoV-2. *Journal of Dental Research*. 2021;100(2):115-23.
8. Ying Wong SC, Tse H, Siu HK, Kwong TS, Chu MY, Sun Yau FY, et al. Posterior oropharyngeal saliva for the detection of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Clinical Infectious Diseases*. 2020;71(11):2939-46.
9. Cañete MG, Valenzuela IM, Garcés PC, Massó IC, González MJ, Providell SG. Saliva sample for the massive screening of SARS-CoV-2 infection: a systematic review. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*. 2021.
10. Rao M, Rashid FA, Sabri FSAH, Jamil NN, Seradja V, Abdullah NA, et al. COVID-19 screening test by using random oropharyngeal saliva. *Journal of Medical Virology*. 2021;93(4):2461-6.
11. Moreira VM, Mascarenhas P, Machado V, Botelho J, Mendes JJ, Taveira N, et al. Diagnosis of SARS-Cov-2 Infection by RT-PCR Using Specimens Other Than Naso-and Oropharyngeal Swabs: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Diagnostics*. 2021;11(2).
12. Vaz SN, de Santana DS, Martins E, Pedroso C, Wang WK, Santos FDA, et al. Saliva is a reliable, non-invasive specimen for SARS-CoV-2 detection. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2020;24(5):422-7.
13. Hanson KE, Barker AP, Hillyard DR, Gilmore N, Barrett JW, Orlandi RR, et al. Self-Collected Anterior Nasal and Saliva Specimens versus Health Care Worker-Collected Nasopharyngeal Swabs for the Molecular Detection of SARS-CoV-2. *Journal of Clinical Microbiology*. 2020;58(11).
14. Trobajo-Sanmartin C, Adelantado M, Navascues A, Guembe MJ, Rodrigo-Rincon I, Castilla J, et al. Self-Collection of Saliva Specimens as a Suitable Alternative to Nasopharyngeal Swabs for the Diagnosis of SARS-CoV-2 by RT-qPCR. *Journal of Clinical Medicine*. 2021;10(2).
15. Kandel C, Zheng J, McCready J, Serbanescu MA, Racher H, Desaulnier M, et al. Detection of SARS-CoV-2 from Saliva as Compared to Nasopharyngeal Swabs in Outpatients. *Viruses-Basel*. 2020;12(11).
16. Yee R, Truong T, Pannaraj PS, Eubanks N, Gai E, Jumarang J, et al. Saliva Is a Promising Alternative Specimen for the Detection of SARS-CoV-2 in Children and Adults. *Journal of Clinical Microbiology*. 2021;59(2).
17. Senok A, Alsuwaidi H, Atrah Y, Al Ayedi O, Al Zahid J, Han A, et al. Saliva as an Alternative Specimen for Molecular COVID-19 Testing in Community Settings and Population-Based Screening. *Infection and Drug Resistance*. 2020;13:3393-9.
18. Fakheran O, Dehghannejad M, Khademi A. Saliva as a diagnostic specimen for

detection of SARS-CoV-2 in suspected patients: A scoping review. *Infectious Diseases of Poverty*. 2020;9(1).

19. Kim SE, Lee JY, Lee A, Kim S, Park KH, Jung SI, et al. Viral Load Kinetics of SARS-CoV-2 Infection in Saliva in Korean Patients: a Prospective Multi-center Comparative Study. *Journal of Korean Medical Science*. 2020;35(31):1-8.

20. Teo AKJ, Choudhury Y, Tan IB, Cher CY, Chew SH, Wan ZY, et al. Saliva is more sensitive than nasopharyngeal or nasal swabs for diagnosis of asymptomatic and mild COVID-19 infection. *Scientific Reports*. 2021;11(1).

21. Riccò M, Ranzieri S, Peruzzi S, Valente M, Marchesi F, Balzarini F, et al. RT-qPCR assays based on saliva rather than on nasopharyngeal swabs are possible but should be interpreted with caution: Results from a systematic review and metaanalysis. *Acta Biomedica*. 2020;91(3):1-15.

22. National Institutes of Health. National Heart L, and Blood Institute. Study Quality Assessment Tools.

23. Altawalah H, AlHuraish F, Alkandari WA, Ezzikouri S. Saliva specimens for detection of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 in Kuwait: A cross-sectional study. *Journal of Clinical Virology*. 2020;132.

24. Guclu E, Koroglu M, Yurumez Y, Toptan H, Kose E, Guneyasu F, et al. Comparison of saliva and oro-nasopharyngeal swab sample in the molecular diagnosis of COVID-19. *Revista Da Associacao Medica Brasileira*. 2020;66(8):1116-21.

25. Procop GW, Shrestha NK, Vogel S, Van Sickle K, Harrington S, Rhoads DD, et al. A Direct Comparison of Enhanced Saliva to Nasopharyngeal Swab for the Detection of SARS-CoV-2 in Symptomatic Patients. *Journal of Clinical Microbiology*. 2020;58(11).

26. Babady NE, McMillen T, Jani K, Viale A, Robilotti EV, Aslam A, et al. Performance of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Real-Time RT-PCR Tests on Oral Rinses and Saliva Samples. *Journal of Molecular Diagnostics*. 2021;23(1):3-9.

27. Butler-Laporte G, Lawandi A, Schiller I, Yao M, Dendukuri N, McDonald EG, 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;181(3):353-60.

28. Nasiri K, Dimitrova A. Comparing saliva and nasopharyngeal swab specimens in the detection of COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Dental Sciences*. 2021.

ANEXOS

PARECER

Monografia/Relatório de Estágio

Declaro que o presente trabalho, no âmbito da Monografia/Relatório de Estágio, integrado no MIMD, da FMDUP, é da minha autoria e todas as fontes foram devidamente referenciadas.

Porto, 18 de Maio de 2021

A estudante

Laura Ferreira

(A Estudante)

PARECER

(Entrega do Trabalho final da Monografia)

Informo que o Trabalho de Monografia/Relatório de Estágio desenvolvido pela estudante Laura Pereira Neves Ferreira, com o título: “Avaliação da eficácia do diagnóstico molecular de COVID-19 em amostras de saliva versus esfregaço nasofaríngeo: uma revisão sistemática”, está de acordo com as regras estipuladas na FMDUP, foi por mim conferido e encontra-se em condições de ser apresentado em provas públicas.

Porto, 18 de Maio de 2021



(O Orientador)

DECLARAÇÃO

Mestrado Integrado em Medicina Dentária

Monografia/Relatório de Estágio

Identificação do autor

Nome completo: Laura Pereira Neves Ferreira

Nº identificação civil: 14572878

Nº Estudante: 201604971

Email institucional: up201604971@edu.fmd.up.pt

Email alternativo: lpnf.lpnf@gmail.com **Tlf/Tlm:** 964239123

Faculdade/Instituto: Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto

Identificação da publicação

Dissertação de Mestrado Integrado (Monografia) ☒ **Relatório de Estágio** ☐

Título Completo: Avaliação da eficácia do diagnóstico molecular de COVID-19 em amostras de saliva versus esfregaço nasofaríngeo: uma revisão sistemática

Orientador: Professor Doutor Paulo Melo

Coorientador: Não possui

Palavras-chave: "SARS-CoV-2"; "esfregaço nasofaríngeo"; "saliva"; "COVID-19"; "diagnóstico molecular"; "RT-PCR"; "revisão sistemática".

Autorizo a disponibilização imediata do texto integral no Repositório da U. Porto: ____ (x)

Não autorizo a disponibilização imediata do texto integral no Repositório da U. Porto: X (x)

Autorizo a disponibilização do texto integral no Re

positório da U. Porto, com período de embargo, no prazo de:

6 meses: ____; 12 meses: X; 18 meses: ____; 24 meses: ____; 36 meses: ____; 120 meses: ____;

Justificação para a não autorização imediata: O trabalho será publicado primeiramente numa revista científica

Porto, 18 de maio de 2021

Assinatura: Laura Ferreira