مروری بر استفاده از بزاق برای تشخیص کووید۱۹

کیمیا قدس[۱]، دکتر آرزو علایی[۲]، سارینا جاوید[۱]، فاطمه جعفری[۱]

۱- دانشجوی دانشکده دندانپزشکی، عضو مرکز تحقیقاتی مواد دندانی، دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- استادیار، گروه بیماری های دهان و فک و صورت، عضو مرکز تحقیقاتی مواد دندانی، دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی، تهران، ایران

وصول مقاله: ۱۴۰۰/۷/۲۱ اصلاح نهایی: ۱۴۰۰/۱۱/۲۲ پذیرش مقاله: ۱۴۰۱/۲/۱۷

Saliva As a Diagnostic Tool in Covid 19 Detection, A Review

Kimia Ghods [1], Arezoo Alaee [2], Sarina Javid [1], Fatemeh Jafari[1]

1- Dental Student, Member of Dental Mateiral research Center, Faculty of Dentisry, Tehran Medical Science Islamic Azad University, Tehran, Iran

2- Assistant Professor, Oral Medicine Dept, Member of Dental Mateiral research Center, Faculty of Dentisry, Tehran Medical Science Islamic Azad University, Tehran, Iran

Received: Sep 2021 ; Accepted: Apr 2022

Abstract

Background and Aim: Delayed detection of SARS-CoV-2 has been a major hindrance in curbing the current COVID-19 pandemic. Wide spread testing is the most practical way out of the current crisis. The current gold standard for COVID-19 diagnosis is real-time reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) detection of SARS-CoV-2 from nasopharyngeal swabs. However, collecting nasopharyngeal swabs causes discomfort to patients due to the procedure's invasiveness, limiting compliance for repeat testing, and the procedure presents a considerable risk to healthcare workers. Therefore, developing rapid and convenient ways of testing for COVID-19 will greatly enhance the capacity of testing. Alternatively, saliva is a promising candidate for SARS-CoV-2 diagnostics. The purpose of this review is to provide an update and review of the composition of the latest research and to compare the various methods and techniques developed for the diagnosis of COVID-19 by saliva.

Material and Methods: In this review article, data were collected by searching articles which were published between year 2019 and 2021 in domestic and foreign journals, using databases such as: PubMed, PubMed Central, Medline, EBSCO, Google Scholar and Embase with keywords: Saliva, Covid_19, Covid_19 Test, Salivary Test. Among the relevant authorities, the articles that were cited many times and were more up to date, were selected.

Conclusion: that saliva is an acceptable alternative source for detecting SARS-CoV-2. It imposes the development ofnew strategies for COVID-19 diagnosis; however, despite the colossal demand for novel diagnostic platforms with non-invasive and self-collection samples of COVID-19, the accuracy of salivary SARS-CoV-2 platforms are still not well- elucidated.

Key words: Saliva, Covid_19, Covid_19 Test, Salivary Test

***Corresponding Author:** arezoo.alaee@yahoo.com

J Res Dent Sci. 2022;19 (4): 355-368

نویسنده مسئول مکاتبات: دکتر آرزو علایی تلفن: ۲۲۵۶۴۵۷۱ پست الکترونیک arezoo.alaee@yahoo.com

خلاصه:

سابقه و هدف: تاخیر در تشخیص**SARS-CoV-2** ، مانع بزرگی در مهار اپیدمی فعلی کووید ۱۹ میباشد. آزمایشات گسترده، عملی ترین راه برای خروج از بحران کنونی است. استاندارد طلایی فعلی برای تشخیص**COVID-19** ، واکنش زنجیره ای پلیمراز رونویسی معکوس) **(RT-PCR**با استفاده از سواب نازوفارنکس است. با این حال، جمع آوری سواب های نازوفارنکس به دلیل تهاجمی بودن، باعث ناراحتی بیماران و محدودیت انجام آزمایشهای مجدد می شود و این روش خطرات قابل توجهی را برای کارکنان مراقبت های بهداشتی به همراه دارد. بنابراین، ایجاد روشهای سریع و راحت برای تشخیص **COVID-19** ظرفیت آزمایشات را تا حد زیادی افزایش می دهد. از طرفی، بزاق یک کاندید امیدوار کننده برای تشخیص **SARS-CoV-2** است. هدف از این مرور، ارائه یک به روز رسانی و بررسی آخرین تحقیقات انجام شده و مقایسه روش ها و تکنیک های مختلف توسعه یافته برای تشخیص **COVID-19** به وسیله بزاق است**.**

مواد و روش‌ها: در این مقاله مروری، جمع آوری اطلاعات از طریق جستجوی مقالات موجود در ژورنال های داخلی و خارجی، با استفاده از پایگاه های اطلاعاتی چون**PubMed :. PubMed Central، Medline، EBSCO، Google Scholar**و **Embase** با واژه های **Saliva،Covid_19 Test ، Covid_19، Salivary Test**در فاصله بین سالهای ۲۰۱۹ تا ۲۰۲۱ صورت گرفت. در بین مراجع مرتبط، تعداد۴۷ مقاله معتبر که بارها مورد استناد قرار گرفته بودند و به روزتر بودند، انتخاب گردیدند**.**

نتیجه‌گیری: به نظر می رسد بزاق یک منبع جایگزین قابل قبول برای تشخیص **SARS-CoV-2** است. همچنین، افزایش تقاضا برای بسترهای تشخیصی جدید کووید۱۹، با نمونه های غیرتهاجمی و جمع آوری توسط خود فرد، می تواند پس از ایجاد یک برنامه استراتژیک، به خوبی طراحی شده و اجرا شود .

کلید واژه ها: تست بزاقی ، تست کوید ۱۹، کوید ۱۹ و بزاق

مقدمه:

در سال ۲۰۰۳، سندرم تنفسی حاد شدید کرونا ویروس (SARS-CoV)باعث شیوع ویرانگری با نرخ مرگ و میر ۱۰٪ در جهان شد. در دسامبر ۲۰۱۹، یک ویروس جدید (nCoV_2019)شبیهSARS- CoV ، در استان هوبی چین ظاهر شد و به سرعت در سایر نقاط جهان گسترش یافت.[۱] این ویروس جدید به دلیل ارتباط نزدیک با ویروس مسئول اپیدمی سارس ۲۰۰۳، به نام سندرم حاد تنفسی شدید ۲ (SARS_CoV_2) و بیماری ناشی از آن، (Covid-19)نامگذاری شد.[۲] در ۱۱ مارس ۲۰۲۰، WHOآن را یک پاندمیک طبقه بندی کرد.[۳] ۲۰۱۹ nCoV-متعلق به تبار B از جنس Betacoronavirusاست.[۱] علیرغم این واقعیت که SARS-COV2دارای ۸۰ درصد شباهت توالی با SARS-CoVاست، به نظر می رسد مسری بودن آن بسیار بیشتر باشد.[۲]

کووید۱۹ از طریق هوا در حین تنفس، سرفه، عطسه و مکالمات نزدیک (۱ تا ۳ متر) در اکثر موارد از طریق قطرات تنفسی از فردی به فرد دیگر منتقل میشود.[۴] بزاق حاوی ویروس های زنده است SARS-CoV-2 .ممکن است از طریق بزاق مستقیم یا غیر مستقیم حتی در بیماران بدون سرفه یا سایر علائم تنفسی منتقل شود.[۱] دوره کمون این بیماری در حدود ۷ تا ۱۴ روز است.[۵] با وجود افزایش تعداد بیماران کووید ۱۹ در زمان شیوع بیماری، شناسایی سریع و دقیق بیماران نیازمند به درمان یا غربالگری و قرنطینه آنها برای مدیریت COVID-19 مهم است.[۶] بخش بزرگی از جمعیت آلوده بدون علامت هستند.[۷] روش های جمع آوری نمونه نیز، عامل تعیین کننده ی مهمی در دقت تشخیص

است.[۸] بررسی اعتبار روش های تشخیصی جدید ضروری است.[۹]

بر اساس تجربیات دیگر بیماری های عفونی تنفسی، از جمله SARS در سال ۲۰۰۳، تشخیص RNA ویروسی توسط واکنش زنجیره ای پلیمراز رونویسی معکوس-rRT) (PCRدر نمونه های تنفسی، به عنوان استاندارد طلایی تشخیص در نظر گرفته شده است.[۲] برای روشهای آزمایش مبتنی برRT-PCR ، توالی های نوکلئوتیدی، در تعدادی از ژن های SARS-CoV-2 مانند: ژن های E، RdRp، N1و N2 و Sمی تواند به عنوان اهداف تشخیصی استفاده شود.[۱۰] در بین نمونه های مختلف تنفسی، سواب نازوفارنکس (NPS)به عنوان اولین انتخاب از نظر حساسیت برای آزمایشات توصیه شده است.[۲] با این حال، نیاز فوری برای جایگزین NPSوجود دارد؛ زیرا منابع سواب محدود است و این روش برای بیماران ناراحت کننده است.[۸] همچنین کمبود کیت های استخراجRNA ، تجهیزات حفاظتی شخصی، ابزار دقیق، استفاده از این آزمایش استاندارد را با محدودیت هایی مواجه می کند.[۱۱]

برای تشخیصSARS-CoV-2 میتوان از نمونه های بیولوژیکی دیگری، از جمله: نمونه های قسمت فوقانی دستگاه تنفسی مانند: سواب های نازوفارنکس(NPS)، سواب های اوروفارنکس (OPS)، سواب های گلو، سواب های بینی و قسمت تحتانی دستگاه تنفسی مانند: ترشحات نای و شستشوی ناحیه حلقوی با درجات مختلف حساسیت استفاده کرد.[۱۰] سواب های نازوفارنکس (NPS) و اوروفارنکس (OPS)، نمونه های قسمت فوقانی دستگاه تنفسی پیشنهاد شده، توسط WHO برای تشخیص کووید ۱۹ می‌باشند.[۱۲،۱۳] نمونه های دستگاه تنفسی تحتانی مانند: خلط، ترشحات نای و شستشوی برونکوآلوئولار، بهتر از نمونه های دستگاه تنفسی فوقانی برای تشخیص SARS-CoV-2 در بیماران مبتلا به علائم تنفسی در نظر گرفته می شود.[۱۴] و قابل اطمینان ترند، اما به دلیل پیچیدگی فنی، بدست آوردن این نمونه ها، در مقایسه با سواب های نازوفارنکس (NPS) و اوروفارنکس (OPS) کمتر ترجیح داده میشوند. [۱۰] نمونه های تنفسی فوقانی ممکن است عفونت ویروسی اولیه را نشان ندهند.[۴]

مواد و روش ها:

در تهیه این مقاله مروری، از بانک های اطلاعاتی همچون PubMed، PubMed Central، Medline، EBSCO Embaseو Google Scholar کمک گرفته شد و تعداد ۲۶۵ مقاله شامل ۲۵۸ مقاله انگلیسی و ۷ مقاله فارسی در فاصله سالهای ۲۰۱۹ تا ۲۰۲۱ که دارای حداقل یکی از کلمات کلیدی مانند:

Saliva، Covid_19 Test، Covid_19، Salivary Test، Coronavirus، Viral load ، در عنوان خود بودند، انتخاب و مطالعه شدند. سپس براساس سال انتشار، نام نویسنده اول و میزان مرتبط بودن عنوان و هدف، نوع مطالعه مقالات مناسب مورد بررسی قرار گرفتند. در انتها ۴۶ مقاله انگلیسی و ۱ مقاله فارسی برای تجزیه و تحلیل نهایی و نگارش مقاله مروری انتخاب شدند.

یافته ها:

یافته های حاصل از مرور مطالعات مختلف بیانگر این است که اجزای متنوع موجود در بزاق هر کدام به روشی خاص می توانند در تشخیص ویروس SARS-CoV-2 موثر باشند. تعداد نمونه، روش کار و نتایج مطالعات بررسی شده در این مقاله به صورت خلاصه در جدول ۱ قابل مشاهده می باشد.

جدول ۱- مرروری بر مقالات اخیر

مطالعه	تاریخ انتشار	جمعیت مورد مطالعه	نوع نمونه	بخش هدف آزمایش	روش آزمایشگاهی	نتایج منتشر شده مربوط به بزاق
Nagura-Ikeda و همکاران [۴۶]	2020 July	۱۰۳ بیمار (۸۸ نفر علامتدار و ۱۵ نفر بدون علائم)	بزاق خود جمع آوری شده با تف کردن در لوله و NPS و OPS	پروتئین (N)، ژن E،N2 و N1 ،ORF1	RT-qPCR, Direct RT-qPCR, RT-LAMP, rapid Ag test, cobas SARS-CoV2 test, RT-qPCR LDT	در بین ۷ نوع آزمایش تشخیص مولکولی، RT- qPCR بالاترین حساسیت را در تجزیه و تحلیل ۱۰۳ نمونه بزاق (۸۱/۶٪) نشان داد. RNA ویروسی در ۵۰/۵٪ تا ۸۱/۶٪ از نمونه های بزاق، توسط آزمایش های تشخیص مولکولی مشخص شد و در ۱۱/۷٪ از نمونه ها، آنتی ژن ویروسی یا آزمایش RAT RNA تشخیص داده شد. ویروسی در بزاق در نمونه های جمع آوری شده در ۹ روز پس از شروع علائم به طور قابل توجهی بیشتر بود.[۴۶]
Mak و همکاران [۴۳]	August 2020	۴۵ بیمار	بزاق گلو، سواب گلو، NPS، آسپیرات نازوفارنکس، خلط	ژن RdRp	RAD test, BIOCREDIT COVID-19 Ag test, RT-PCR	از آنجا که خلط و بزاق گلو به بدرت برای آزمایش RAD استفاده می شود، نمونه های بیشتر دیگری از خلط و بزاق گلو جمع آوری شد. آزمایش RAD قادر به تشخیص ویروس SARS-CoV-2 در NPS ،NPA & TS & ،TS ،خلط و بزاق گلو با حساسیت های مختلف است، اما این روش نسبت به RT-PCR حساسیت کمتری دارد. در نتیجه ، نتایج منفی RAD را نمی توان کووید۱۹ را با اطمینان رد کند؛ بنابراین نتایج باید با RT-PCR تأیید شود.[۴۳]
Zhang و همکاران [۴۴]	February 2020	۱۵ بیمار	سواب بزاق، سواب مقعدی، خون، سرم	ژن Rp3 NPو IgM و IgG (الایزا سرم) و ژن S (RT-qPCR)	RT-qPCR, ELSA	از این بیماران ، (۵۳.۳٪) سواب بزاق مثبت، (۲۶.۷٪)سواب مقعدی مثبت ، (۴۰٪) خون مثبت و (۲۰٪) سرم مثبت بودند. نوکلئوتید ویروسی را می توان در سواب مقعد یا خون یافت ، حتی اگر در سواب های دهانی قابل تشخیص نباشد. لازم به ذکر است که اگرچه ممکن است سواب های بزاق و مقعد منفی باشند ، اما بیمار ممکن است همچنان ناقل باشد.[۴۴]
Xun و همکاران [۴۵]	May 2021	۱۰۴ نمونه بزاق بالینی، از قبل توسط RT-qPCR (سه ژن هدف S ،ORF1ab ، N) بررسی شد (کورسازی)	بزاق دهان	ژن N و E	RT-LAMP	این روش میتواند ژن ویروس را در عرض ۳۰ دقیقه تشخیص دهد. نمونه های بزاق دارای (حساسیت ۹۳.۳٪) و (ویژگی ۹۸.۶٪) بودند. این ترکیب سریع، دقیق، حساسیت بالا و قابل حمل، و کم هزینه است و در مناطقی که نیاز به آزمایش فوری کوویید دارند، قابل استفاده است.[۴۵]
MacMulla و همکاران [۴۶]	November 2020	۱۴۹ نفر	بزاق (جمع آوری شده با دستگاه Orasure[50]) سرم	پروتئین N و اسپایک	ELISA	آنتی بادی IgA و IgG علیه SARS-CoV-2 در نمونه های سرم و بزاق بررسی شد. کیت هایی برای تشخیص IgM نیز در نظر گرفته شد، اما به دلیل عدم توافق بر سر ماندگاری IgM در خون، فقط IgG و IgA در این مطالعه بررسی شد. در مجموعه ۱۴۹ نمونه حساسیت بزاق به ۸۴.۲٪ و ویژگی ۱۰۰٪ به دست آمد. اگر جمعیت محدود به افراد بالای ۴۰ سال باشد، حساسیت ۹۱.۵٪ و ویژگی ۱۰۰٪ گزارش شده است. تشخیص آنتی بادی در نمونه های بزاق و سرم، ارتباط ضعیف اما معنی داری را نشان داد. آزمایش IgG کووید۱۹در نمونه های بزاق امکان پذیر است و برای تشخیص عفونت قبلی گزینه مناسبی است.[۴۶]
Han و همکاران [۴۷]	October 2020	۱۲ کودک (۳ نفر بدون علامت و ۹ نفر علائم خفیف)	بزاق، NPS، مدفوع	ــــــــــ	RT-qPCR	نمونه های بزاق در هفته اول ۸۰٪، در هفته دوم ۳۳٪ و در هفته سوم ۱۱٪ مثبت بودند.[۴۷]

ادامه جدول ۱

مطالعه	تاریخ انتشار	جمعیت مورد مطالعه	نوع نمونه	بخش هدف آزمایش	روش آزمایشگاهی	نتایج منتشر شده مربوط به بزاق
To, Tsang و همکاران[۴۰]	**March 2020**	۲۳ بیمار در دو بیمارستان هنگ کنگ (چین)	خون ، ادرار ، بزاق عمقی گلو (با سرفه) ، سواب مقعدی	ژن وابسته به **RNA** پلیمراز هلیکاز , آنتی بادی ضد پروتئین اسپایک	**RT-qPCR ELASA**	تأیید اولیه بیماری با نمونه **NPS** یا خلط انجام شد. بار ویروسی بزاق در هفته اول پس از شروع علائم بیشترین بود و با گذشت زمان کاهش یافت. علی‌رغم گسترش آنتی بادی ها علیه پروتئین های سطحی و داخلی **SARS-RNA .CoV-2** ویروسی می تواند پس از ۲۰ روز یا بیشتر از زمان شروع علائم در نمونه بزاق اورفارنکس خلفی یک سوم بیماران تشخیص داده شود. اوج بار ویروسی با سن ارتباط مثبت دارد. اکثر بیماران در ۱۰ روز یا بعد از شروع علائم واکنش آنتی بادی داشتند.[۴۰]
To, Tsang و همکاران[۱]	**February 2020**	۱۲ بیمار(چین)	بزاق عمقی گلو (با سرفه)	ژن **S**	**RT-qPCR** ، محیط کشت ویروسی	نمونه های بزاق در (محدوده ۰ تا ۷ روز) پس از بستری جمع آوری شد. میانگین بار ویروسی اولین نمونه های بزاق در محدوده (۱.۲×۱۰^{۰۸} تا ۹.۹×۱۰^{۰۲}) بود. نمونه های بزاق روند متوالی کاهش سطح **RNA** کووید۱۹ را پس از بستری شدن نشان دادند. **SARS-CoV-2** در بزاق سرفه شده (۹۱.۷٪) بیماران تشخیص داده شد. کشت ویروسی مثبت، ویروس زنده را در بزاق ۳ بیمار مشخص کرد.[۱]
Carcano.Azzi و همکاران[۴۱]	**April 2020**	۲ (ایتالیا)	ترشحات بزاق غیرارادی و **NPS**	منطقه ۵′**UTR** ژن ویروسی	**RT-qPCR**	دو کیس بیمار، همزمان سواب تنفسی منفی و نمونه بزاق مثبت را نشان دادند. در این روش جمع آوری بزاق فقط مایعات دهانی جمع آوری میشود و ترشحات مخاطی از اوروفارنکس و دستگاه تنفسی تحتانی حذف می شود.[۴۱]
Carcano.Azzi و همکاران[۴۲]	**April 2020**	۲۵ بیمار حاد یا خیلی حاد (ایتالیا)	ترشحات بزاق غیرارادی و سوب بزاق	منطقه ۵′**UTR** ژن ویروسی	**RT-qPCR**	**SARS-CoV-2** در اولین سواب بزاق از هر ۲۵ بیمار تشخیص داده شد.[۴۲]
Iwasaki و همکاران[۳۴]	**August 2020**	۱۰ بیمار خفیف تا متوسط (ژاپن)	بزاق خود جمع آوری شده با تف کردن در لوله و **NPS**	_____	**RT-qPCR**	میزان تطابق تشخیص ویروس، بین دو نمونه بزاق و **NPS** به ۹۷.۴٪ رسید. در ۸۰٪ بیماران در نمونه های **NPS** و بزاق و در ۲۰٪ بیماران فقط در یکی از دو نمونه تشخیص داده شد در مراحل اولیه بار ویروسی هر دو نوع نمونه معادل بود اما در مرحله بهبودی، نمونه بزاق بیماران زودتر از نازوفارنکس، منفی می شود. در مرحله تقاهت، بار ویروسی در بزاق زودتر از نازوفارنکس کاهش میابد. همه ۱۲ نمونه بزاق گرفته شده طی ۲ هفته پس از شروع کووید۱۹در بزاق مثبت بودند و پس از ۲ هفته، **PCR** برخی از نمونه ها منفی شد، نکته جالب این است که در یکی از بیماران با نتیجه بزاق منفی، نمونه ها ۱۹ روز پس از شروع گرفته شده بود.[۳۴]
Chen, Yip و همکاران[۳۶]	**December2020**	۵۸ بیمار	بزاق خلفی اوروفارنکس و **NPS**	ژن **E** و**N2**	**Xpert Xpress SARS-CoV-2 (Cepheid)**	۸۴.۵٪ در **NPS** و بزاق مثبت بودند و ۱۰.۳٪ فقط در **NPS** و ۵.۲٪ فقط در بزاق مثبت بودند.[۳۶]

بحث:

SARS-CoV-2 حداقل سه مسیر مجزا برای ورود به بزاق دارد:[۱۵]

۱. ورود از طریق دستگاه تنفسی تحتانی و فوقانی به حفره دهانی، همراه با قطرات مایع

۲. ممکن است در خون وجود داشته باشد و از طریق مایع لثه وارد دهان شود.

۳. عفونت غدد بزاقی مینور و ماژور، با انتشار ذرات در بزاق[۱۵]

با این حال، باید توجه داشت که نمونه های بزاق نه تنها حاوی بزاق ترشح شده از غدد بزاقی ماژور یا مینور هستند، بلکه حاوی ترشحاتی هستند که از نازوفارنکس منتقل می شوند یا از طریق رگ های مژک های پوشاننده راه هوایی خارج می شوند. برای مشخص کردن منابع nCoV-۲۰۱۹ در بزاق، مطالعات بیشتری لازم است.[۱]

گزارش شده است که پروتئین اسپایک SARS-CoV-۲ تمایل زیادی به گیرنده ACE2 دارد.[۱۰] این ویروس با کمک آنزیم تبدیل کننده آنژیوتانسین ۲(ACE2)، ابتدا به سطح سلول اتصال و سپس وارد سلول ها میشود.[۵] سلولهای اپیتلیال غدد بزاقی دارای بیان بالایی از ACE-2 هستند که نشان می دهد غدد بزاقی ممکن است یکی از اهداف حمله‌ی کوویید۱۹ باشد و مخزن قابل توجهی از ویروس هستند.[۱۵] سلولهای ACE2 در تمام دستگاه تنفسی به وفور دیده میشود. [۵] همچنین، در دهان، زبان بیشترین مقدار بیان را دارد.[۱۶]

موارد تشخیصی موجود در بزاق:

عفونت های ویروسی را می توان با بزاق تشخیص داد. به طور مستقیم (یعنی DNA یا RNA) ویروس، یا غیر مستقیم، با جستجوی اثرات باقی مانده از عفونت ها، مانند: پروتئین ها (تجزیه پروتئومیک)، متابولیت ها، miRNA ها و ایمونوگلوبولین ها مانند IgM، IgG و IgA را میتوان مورد هدف قرار داد. [۱۵]

در حال حاضر، بیش از ۷۰۰ گونه میکروبی در بزاق کشف شده است، بسیاری از آنها با بیماریهای دهانی و سیستمیک در ارتباط هستند.[۲] برخی از ویروسهای بیماریهای عفونی در مقیاس بزرگ، به ویژه (SARS) و (MERS)، در بزاق قابل تشخیص است.[۳] (Hyposalivation) کاهش ترشح بزاق می تواند باعث اختلال در عملکرد سطوح مخاط دهان و مجاری تنفسی به و چسبندگی و تکثیر ویروس را افزایش دهد. [۱۵]

بزاق مانند خون، غنی از نشانگرهای بیولوژیکی متعدد است؛ زیرا دو سیال زیستی شباهت های زیادی در ترکیبات مولکولی خود دارند.[۳،۱۷] محدودیت های استفاده از بزاق، برای تشخیص، به دلیل غلظت کم آنالیت های بزاق در مقایسه با خون، با توسعه روش های مولکولی دقیق و فناوری نانو برطرف شده است.[۱۲] همچنین، حساسیت بیشتر سنجش های مولکولی خودکار، مشکل بار کمتر ویروسی در نمونه های بزاق را برطرف ساخته است. بزاق را می توان به راحتی و با حداقل تجهیزات و نیروی انسانی جمع آوری کرد[۱۸]

بررسی غدد بزاقی:

در یک مطالعه روی بزاق مستقیم از مجرای غدد بزاقی، چهار مورد از ۳۱ نفر (۱۲/۹٪) از بیماران مبتلا، در بزاق خود RNA مثبت بودند، که سه مورد از آنها به شدت بیمار بودند و نیاز به حمایت با دستگاه های تنفسی داشتند، نتایج نشان می دهدکه بزاق استخراج شده از مجاری غدد بزاقی میتواند یک آزمایش قابل اعتماد و غیرتهاجمی و به عنوان شاخصی برای شدت کووید۱۹ محسوب می‌شود.[۱۹]

چه زمانی حساسیت تشخیصی بزاق بیشتر است؟

در مطالعه ای نشان داده شد که تشخیص RNA ویروسی بزاق، در نمونه های جمع آوری شده در مرحله ی اولیه شروع علائم (طی ۹ روز) به طور قابل توجهی بیشتر از نمونه های جمع آوری شده در مرحله ی بعدی (بیش از۱۰روز) است. از آنجا که بار ویروسی SARS-CoV-2 در بزاق بعد از شروع علائم کاهش میابد، نمونه بزاق باید در مرحله ی اولیه شروع علائم جمع آوری شود تا حساسیت افزایش یابد.[۶] ممکن است برخی از سویه های ویروسی ۲۹ روز پس از عفونت در بزاق زنده بمانند و امکان تشخیص بیماری را حتی در مراحل بعدی بیماری افزایش دهند.[۲۰]

روش های جمع آوری بزاق:

تنوع زیادی در جمع آوری بزاق وجود دارد مانند:آسپیراسیون با سرنگ و لوله آزمایش، خلط، تف، تخلیه (drooling)، سواب،[۱۷] سرفه،[۲۱] وجمع آوری با دستگاهی مانند اسفنج و به طور مستقیم از مجرای غدد بزاقی،[۱۰] که بزاق بیشتری را برداشت می‌کنند، اما این تکنیک نیاز به تجهیزات خاصی دارد که به طور گسترده از آنها استفاده نمی شود.[۱۰] قبل ازمایش استفاده از مسواک یا دهانشویه لازم نیست. میزان بزاق جمع آوری شده است که باید حدود ۳ میلی لیتر باشد و می تواند با تحریک یا بدون تحریک بزاق، جمع آوری شود. در صورت تولید بزاق پس از تحریک، روش جمع آوری می تواند به صورت مکانیکی (مانند آدامس، پارافین، لاتکس) یا شیمیایی (به عنوان مثال اسید سیتریک ۱ تا ۵ درصد) انجام شود.[۱۷]

بزاق حاصل از سرفه:

در دو مطالعه بر روی بزاق سرفه، ۱۱ مورد از ۱۲ مورد (۹۱/۶۷ درصد) و ۲۰ مورد از ۲۳ مورد (۹۶/۸۶ درصد) از بیماران COVID-19، دارای RNA مثبت ۲۰۱۹-nCoV در بزاق خود بودند.[۱۹] Yuf و همکاران، به تازگی گزارش کردند که نمونه بزاق (پس از سرفه عمیق) می تواند تا حد زیادی دقت تشخیص را بهبود بخشد.[۲۲]

استفاده از بزاق اوروفارنکس:

استفاده از بزاق اروفارنکس به عنوان نمونه تشخیص SARS-CoV-2 نیز در مطالعات استفاده شده است. این بدان معناست که بیمار علاوه بر بزاق دهانی تولید شده توسط غدد بزاقی، که خارج از دستگاه تنفسی قرار دارند، ترشحات حلقی را که متعلق به ترشحات تنفسی است نیز تخلیه می کند. چنین نمونه هایی حاوی هر دو ترشحات برونکوپلمونر و نازوفارنکس می باشد.[۲]

استفاده از بزاق عمقی گلو (خلف اوروفارنکس):

بزاق عمقی گلو (DTS) می تواند به عنوان یک نمونه جایگزین برای تشخیص SARS-CoV-2 در نظر گرفته شود. بزاق از بخش های عمقی گلو بیشترین نرخ مثبت را دارا میباشد، که می تواند باعث تشخیص زود هنگام کوویید۱۹ شود.[۱۴]

مقایسه سواب/ آسپیرات نازوفارنکس و بزاق:

Landry و همکاران با بررسی بیماران علامت دار نشان دادندکه ۸۴/۶٪ از بیماران NPS مثبت، RNA ویروسی را در بزاق خود دارند و۲٪ از بیماران NPS منفی، نمونه بزاق مثبت داشتند. همچنین، مقادیر Ct NPS کمتر از بزاق بود.[۲۳] طبق مطالعه ای دیگر، حساسیت و ویژگی آزمایشات مبتنی بر بزاق بالا است و بیش از ۹۰٪ مطابقت بین بزاق و سواب های نازوفارنکس وجود دارد.[۱۰] در برخی بیماران، ویروس کرونا فقط در بزاق تشخیص داده شد اما در آسپیرات نازوفارنکس مشاهده نشد.[۲] گزارش های اخیر نشان می دهد که ذره هایی از ویروس مرده، می تواند در نازوفارنکس باقی بماند و منجر به "مثبت کاذب" شود.[۲۴] در مواردی همزمان با نتیجه مثبت نمونه بزاق فرد، نتیجه ی NPS او منفی گزارش شد؛ دلایل نهفته در این یافته هنوز

مشخص نیست و می تواند به عوامل مختلفی از جمله عملکرد نادرست روش NPS یا الگوهای مختلف دوره ویروسی و بالینی عفونت مربوط باشد. داده های منتشر شده نشان می دهد که ترکیبی از نمونه های بزاقی و تنفسی در محیط بیمارستان ممکن است حساسیت کلی را افزایش داده و تعداد نتایج منفی کاذب را کاهش دهد.[۲] بیماران COVID-19 ممکن است NPS منفی داشته باشند در حالی که نمونه بزاق آنها در صورت آزمایش با rRT-PCR مثبت باشد.[۲] بزاق یک گزینه جذاب به عنوان جایگزین نمونه NPS است.[۲۳]

مقایسه بزاق با مخلوط NPS و OPS:

برخی از مطالعات نشان داده اند که بار ویروسی در بزاق در مقایسه با مخاط نازوفارنژیال و اوروفارنژیال بیشتر است.[۷] حساسیت نمونه های تصادفی بزاق ۹۵٪ و سواب نازوفارنژیال به همراه اوروفارنژیال بیشتر از ۷۲/۲٪ برآورد شده است.

علاوه بر این، ویژگی بزاق مشابه مطالعه Isao و همکاران، بیشتر از سواب نازوفارنژیال به همراه اوروفارنژیال است.[۷] برای تشخیص کوویید۱۹، بزاق جایگزین بهتری نسبت به سواب های سواب نازوفارنژیال به همراه اوروفارنژیال گزارش شده است.[۷،۲۵]

تفاوت سواب Nasal /Nasopharyngeal /Saliva:

در مطالعه ای، میزان همخوانی و حساسیت نمونه های NS (با روش کوبا) بیشتر از نمونه های SS (با روش کوبا) بود. میزان تطابق و حساسیت بین نمونه های(cobas) NPS و نمونه های (cobas) NS/SS نیز مشابه بود. این نتایج نشان می دهد که بار ویروسی نمونه های NS، به احتمال زیاد، بار ویروسی NPS را منعکس می کند. درنتیجه نمونه های NS جایگزین مناسبی، به ویژه در مراحل اولیه بیماری برای نمونه های NPS میتواند باشد. نمونه های NS ممکن است در ارزیابی بیماران بدون علامت مفید باشد. همچنین ناراحتی کمتری نسبت به NPS برای بیماران ایجاد می کنند.[۲۶] بسیاری از مطالعات حساسیت نمونه SS را در محدوده (۸۵٪-۱۰۰٪) گزارش کرده اند که ارزش معادلی نسبت به NPS دارد. اما در مقاله ای دیگر، میزان حساسیت آنها هر دو پایین بود. این تفاوت بین مطالعه ها ممکن است در روش های آزمایش، از جمله جمع آوری نمونه و رقیق سازی نمونه باشد مثلا در یک روش گفته شده بود که برای جلوگیری از پخش شدن قطرات آلوده سرفه نکنند و حساسیت روش در حدود ۶۶٪ در گذشته گزارش شده بود. درنتیجه حساسیت کلی آزمایش را افزایش میدهد. مراکز کنترل و پیشگیری از بیماری ها و انجمن بیماری های عفونی آمریکا آزمایش نمونه های سواب بینی (NS) و سواب بزاق (SS) را برای SARS-CoV2 با استفاده از RT-PCR توصیه کرده اند.[۲۶]

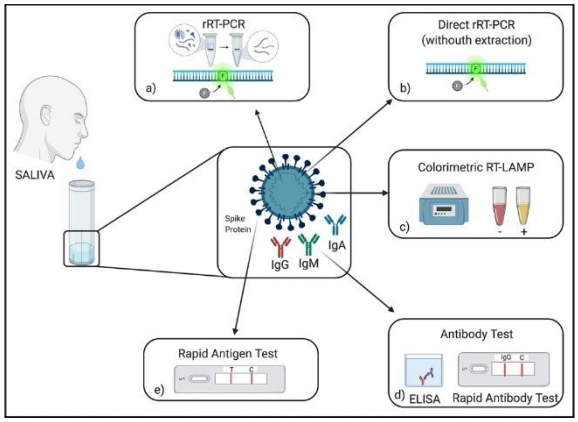
معمولاً برای غربالگری یا تشخیص عفونت اولیه، یک سواب نازوفارنکس توصیه می شود، اما نمونه هایی از Conchae میانی بینی یا بخش قدامی ابتدای بینی نیز قابل قبول است.[۲۷] سواب های میانی بینی جایگزین امیدوار کننده ای برای سواب های NPS می تواند باشد و دارای بار ویروسی بالا هستند.[۱۱]

مقایسه سواب گلو، سواب بینی، خلط:

Li، و همکاران، کارایی تشخیص RT-qPCR را در سواب های گلو، سواب های بینی و نمونه های خلط مقایسه کردند و دریافتند که میزان مثبت نمونه های خلط (۷۴/۴٪-۸۸/۹٪)، سواب بینی(۵۳/۶٪-۷۳/۳٪) و سواب گلو۴۴/۲٪ بود. این نشان می دهد که نمونه های جمع آوری شده از دستگاه تنفسی تحتانی دقت تشخیص را افزایش می دهد.[۲۸] اگرچه روشهای مبتنی بر اسید نوکلئیک، روشهای توصیه شده توسط بسیاری از گروهها و WHO است، اما برخی از کارشناسان اخیراً گزارش کرده اند که حساسیت

تشخیص اسید نوکلئیک SARS-CoV-2 پایین (۴۲/۱۰٪) است و نتیجه مثبت پس از نتایج منفی مکرر ظاهر شده است.[۲۸] جمع آوری نمونه های بینی یا گلو ، هر چند از نمونه های نازوفارنکس کمتر تهاجمی است، اما هنوز ناراحت کننده اند و برای جمع آوری آنها به کارکنان مراقبت های بهداشتی نیاز است.[۱۸]

انواع روش های آزمایشگاهی تشخیصی بزاق:



شکل ۱: انواع روشهای تشخیصی کوویید۱۹ با استفاده از بزاق

آزمایشات توسعه یافته آزمایشگاهی، شامل RT-qPCR با (با استخراج RNA)، وکیت های direct RT-qPCR سریع و بدون نیاز به استخراج RNA، به طور گسترده در سراسر جهان مورد استفاده قرار گرفته اند.

اخیراً، آزمایش rapid antigen test (RAT) که روشی ترکیب شده از ایمونوکروماتوگرافی با یک آنزیم immunoassay، برای یافتن پروتئین(N) نوکلئوکپسید ویروسی، مورد تائید دولت ژاپن قرار گرفته است.[۶]

روش تکثیر ایزوترمال متصل به حلقه (RT-LAMP)، نیز برای تشخیص COVID-19 مفید گزارش شده است.[۶]

RT-LAMP در یک مرحله و در دمای ۶۳ درجه سانتی گراد انجام می شود و نتایج در عرض ۱۵-۴۰ دقیقه، با تشخیص ORF1abو پروتئین اسپایک(S) و پوشش ویروس(E) و ژن (N) کووید۱۹ به دست می آید. این آزمایش می تواند ویروس را در گلو و سواب های بینی تشخیص دهد. روش RT-LAMP بازار گسترده تری برای تشخیص SARS-CoV-2 دارد.[۲۸] اجرای روش RT-LAMP می تواند با استفاده از سه نوع: رنگ سنجی با چشم غیر مسلح ، اسپکتروفتومتری و فلورسانس real-time انجام پذیرد.[۱۱] این روشهای تشخیصی به طور خلاصه در شکل شماره ۱ نشان داده شده است.

واکنش زنجیره ای ترکیبی DNA nanoscaffold (DNHCR)، مبتنی بر استراتژی سنجش اسید نوکلئیک، یک فناوری نوآورانه است که می تواند نتایج را برای نمونه های بزاقی در عرض ۱۰ دقیقه ارائه دهد.[۲]

بیماران مبتلا به SARS-CoV-2، آنفولانزای A، آنفلوانزای B و RSV دارای تظاهرات بالینی مشابهی هستند، اما رویکردهای درمان و مدیریت این ویروس ها متفاوت است. اخیراً، مجوز یک آزمایش جدید (Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV) برای تشخیص کیفی و تمایز این ۴ نوع ویروس، توسط سازمان غذا و داروی ایالات متحده (FDA) را در سپتامبر ۲۰۲۰ منتشر شده است. در این آزمایش از یک کارتریج و نمونه NPS برای هر بیمار استفاده میشود و نتایج بعد ۳۶ دقیقه به دست می آید.[۲۹] با این حال، به دلیل کمبود NPS و افزایش نیاز به منابع جایگزین آن، مؤسسه هایی به دنبال تائید نمونه بزاق برای تشخیص کووید۱۹، با استفاده از آزمایش Cepheid Xpert Xpress SARS-CoV-2 هستند. زمان اجرا آن تقریباً ۳۰ تا ۵۱ دقیقه است و هدف آن شناسایی دو بخش E و N2 از ژنوم ویروس است. تشخیص هر دو هدف یا N2 به تنهایی، مثبت و تشخیص E به تنهایی، مثبت فرضی تلقی می شود.[۳۰] مزایا و معایب این روش ها، در جدول ۲ توضیح داده شده است.

جدول ۳-مقایسه روش های آزمایشگاهی تشخیصی بزاق

روش ها تشخیصی مبتنی بر بزاق	مزایا انجام کار	معایب انجام کار
RT-qPCR مستقیم	بدون نیاز به استخراج سادگی کاهش زمان و RNA بدون نیاز به پرسنل[۶]	نتایج منفی کاذب [۶]
RT-qPCR	RNAروش های استخراج خلوص نمونه را افزایش داده و غلظت ویروس را افزایش می دهد.[۱۱]	هزینه بر و زمان بر است و برخی از معرف ها هنوز با کمبود مواجه هستند.[۱۱]
RT- LAMP	بدون نیاز به سادگی۱۰،۱۵، حساسیت ،RNAاستخراج RT-pcr۹۵درصدی مطابق ۴ و ویژگی بالا [۱۱]	منفی کاذب.۱۰ حساسیت نسبت به RT-LAMP و RT-qPCR LDT در نمونه های cobasآزمایش بزاق کمتر است. [۶]
ازمایش تشخیص سریع انتی ژن)RAD(	به راحتی حتی روی تخت بیمار. [۶]	با ویسکوزیته RADکیت بزاق سازگار نیست و نیاز به کپی ویروسی بالا دارد. [۶]
ELISA	ویژگی بالا (۹۹٪) کارایی روش در مقایسه با روش ELISA روز پس از شروع PCR 5/5 علائم بیشتر بود.[۲]	موردی در مقالات بررسی شده مشاهده نشد

استفاده از آنتی بادی های بزاق:

عفونت فعال را می توان با آزمایش مولکولی RNA ویروسی تشخیص داد. آزمایش آنتی بادی بر روی نمونه خون(یا بزاق)، برای تعیین قرار گرفتن قبلی در معرض ویروس مفید است و اطلاعاتی از وضعیت ایمونولوژیکی فرد ارائه می دهد. می توان آن را با روش جریان جانبی (LFA) و (ELISA) انجام داد.[۳۱] روشهای مبتنی بر آنتی بادی هدف IgG و IgMضد پروتئین های نوترکیب N و S کووید۱۹ است.[۲۸] IgA ۲۸ اختصاصی SARS- CoV در بزاق موشهایی که از طریق بینی با ذرات شبیه ویروس SARS- CoV ایمن شده بودند، ثبت شده است. منطقی است که، آنتی بادی های ضد SARS-CoV-2 ممکن است در بزاق انسان نیز وجود داشته باشد.[۱۰]

روش الایزا(ELISA) ، روش(GICA)

gold immuno chromatographic assay و روش chemiluminescence immunoassayیا (CLIA) متداول ترین روش های یافتن آنتی بادی هستند. [۲۸]در یکی از مطالعات، پاسخ آنتی بادی IgG ، IgAو IgM ضد اسپایک (اما نه نوکلئوکپسید) در بزاق بیماران علامت دار و بدون علامت، غیر بیمارستانی به آسانی قابل تشخیص بود. جالب است که پاسخ آنتی بادی بزاق و سرم و علائم تا حد زیادی مستقل از یکدیگر است برخلاف آنتی بادی های IgMوIgG ، که معمولاً در بزاق کمتر از خون هستند، IgAبه خوبی نمایان می شوند. که یکی از مزایای بزاق نسبت به نمونه های خون است IgA .در سرم بیماران COVID-19تشخیص داده شده است و به نظر می رسد زودتر از آنتی بادی IgM یا) IgG احتمالاً ۲ روز پس از شروع علائم) قابل تشخیص باشد. [۲]

مقایسهPCR با:RT_LAMP

RT-LAMPجایگزینی برای روش های رایج PCR است؛ زیرا برای انجام واکنش یا تفسیر نتایج به ابزارهای گران نیاز ندارد. [۲۸] حساسیت RT-LAMPبرای SARS-CoV-2 با استفاده از نمونه های دستگاه تنفسی فوقانی و تحتانی معادل RT-qPCR گزارش شده است.[۲]

کیفیت LAMP نسبت به مهار کننده های PCR باعث می شود که از آن به خوبی و به طور گسترده ای برای تشخیص پاتوژن ها، استفاده شود. این یک مزیت بالقوه نسبت به پروتکل های آزمایشی فعلی است[۲۸]روش های استخراجRNA ، خلوص نمونه را افزایش داده ولی هزینه بر، زمان بر و با کمبود برخی از معرفها همراه است.[۱۱] بزاق یک

نمونه امیدوار کننده برای گسترش و تسهیل RT-LAMP به دلیل بار ویروسی نسبتاً زیاد آن است.[۳۸]

با این حال، نتایج دیگر نشان داد که حساسیت-RT LAMPنسبت به آزمایش RT-qPCR و تست کوبا SARS-CoV-2برایCOVID-19 ، در نمونه بزاق کمتر است. [۶]

آنتی بادی علیه:COVID-19

حساسیت روشهای تشخیصی، با هدف IgG و IgM ، بیشتر از ۷۱/۴٪ و بیشتر از ۵۷/۲٪ ، و یا حتی بیشتر از ۹۷/۵٪ و ۸۷/۵٪ گزارش شده است. همچنین مشخص شده که ELISA در تشخیص و تعیین کمیت IgG و-SARS CoV-2 IgM، نسبت به روش ایمونواسی جریان جانبی (LFIA)برتری دارد و ۱۰ روز پس از ظاهر شدن علائم، نسبت به IgG بسیار حساس است. حساسیت آزمایش تشخیصی IgM و IgG به طور قابل توجهی بالاتر از تشخیص صرفا نوکلئیک اسید، IgMیا IgG است حساسیت ELISA و GICA برای تشخیص همزمان آنتی بادی IgM و IgG به ترتیب ۸۷/۳ و ۸۲/۴٪ بود، و ویژگی آنها ۹۰/۶۳٪ و۱۰۰٪ گزارش شد. علاوه بر این، ترکیب IgA/IgGیا IgA/IgM/IgG می تواند از نظرتشخیصی، نتایج اطمینان بخش تری را در مقایسه با ترکیبات معمولی IgM/IgGفراهم کند.[۳۸]

به تازگی، یک پروتکل تست ELISA به طور خاص برای تشخیص IgA در بزاق طراحی شده است:

Brevitest IgA Salivary Mucosal Test ([BRAVO]ارزش پیش بینی مثبت ۹۲٪ و ارزش پیش بینی منفی ۹۷٪ را در گروه ۳۸ بیمار که قبلا PCR مثبت بودند، گزارش کرده است. [۲]

در مطالعه که برای تشخیص کووید۱۹ با آزمایش سریع بزاق Rapid salivary test (RST)بر اساس LFA انجام شد، کمتر از ۱۰ دقیقه، وجود پروتئین اسپایک ویروس در بزاق با حساسیت بالایی (٪۹۳) نشان داده شد. اما سایر مطالعات، حساسیت پایینی را گزارش کردند. این تفاوتها احتمالاً به دلیل عملکردهای متفاوت آنتی بادی مورد استفاده است.[۲]

فناوریPoint-of-Care testing :(POCT)

فناوری برای تشخیص کوویید۱۹ با بزاق است، در واقع، یک آزمایش تشخیص پزشکی است که در محل مراقبت از بیمار، یعنی مطب پزشکی یا ایست بازرسی غربالگری انجام می شود. این روش نیازی به تنظیمات آزمایشگاهی متمرکز ندارد، بنابراین از ازدحام زیاد و وسایل حمل و نقل گران جلوگیری می شود و معمولاً در عرض ۳۰ تا ۶۰ دقیقه نتیجه می دهد. [۲] نتایج تشخیص POCT در هر دو NPS و بزاق ۱۰۰٪ با نتایج RT-PCR مطابقت داشت.[۱۳]

آزمایش RAT/RADTدر مقایسه با: PCR

آزمایشات RAT به راحتی قابل انجام هستند؛ اما حساسیت کم آنها برای تشخیص افتراقی موارد مشکوک به عفونت حاد تنفسی در همه گیری COVID-19 نگران کننده است. اسکوهی و همکاران گزارش کردند که آزمایش RAT تنها ۴۲/۱٪ از نمونه های RT PCR مثبت را تشخیص داد. کاربرد بالینی محدود از آزمایش RAT بزاق نشان می‌دهد. [۳۲]

نتایج روش:Xpert Xpress SARS-CoV-2

در آزمایشXpert ، در هر دو نمونه بزاق وNPS ، ژن N2 نسبت به ژنE ، نرخ مثبت بالاتری دارد. ژن N2 می تواند بیش از ۹۳٪ از نمونه های NPS و بزاق را تشخیص دهد، در حالی که ژن E کمتر از۹۰٪ در NPS و بزاق تشخیص داده میشود.[۱۳]

آزمایشات اسید نوکلئیک سریع جدید، مانند سیستم Abbott ID Now، نیازی به اپراتور تخصصی یا تجهیزات پیچیده برای RT-qPCR لازم ندارد و این پتانسیل را دارد که ظرفیت تشخیص کووید -۱۹ را در خارج از آزمایشگاه

های بالینی گسترش دهد. متأسفانه، نتایج مثبت گزارش شده (۷۳/۹٪-۸۰/۴٪) سیستمAbbott ID Now ، در مقایسه باRT-qPCR ، به دلیل میزان هشداردهنده نتایج منفی کاذب غیرقابل قبول است.[۳۳]

استفاده از تلفن هوشمند برای تشخیص RNA ویروسی بزاق :

Ning و همکاران روش CRISPR-FDS را در تشخیص کووید۱۹بزاق پیشنهاد کردند، این روش از فعالیت CRISPR/Cas12a، برای تقویت سیگنال از RNA هدف ویروسی تقویت شده استفاده می کند، که توسط دیود لیزری میکروسکوپ فلورسانس تلفن هوشمند تحریک می شود. این دستگاه به طور قوی بار ویروسی را در طیف خطی وسیع (۱-۱۰۵نسخه (µL/اندازه گیری کرده و محدوده تشخیص در روش مرجع RT-PCR (0.38 نسخه (µL/ است. سطوح RNA SARS-CoV-2گزارش شده، توسط CRISPRدر بزاق بیماران توسط تلفن های هوشمند، در مقایسه با نتایج بزاق و سواب بینی اندازه گیری شده با-RT PCR، ارتباط خوبی را نشان داد و قابلیت بالقوه این دستگاه، قابل حمل بودن آن است.[۳۳]

معایب سواب های NP وOP:

در تهیهNPS ، برای دسترسی به منطقهNP ، باید سر فرد ۷۰ درجه کج شود و در صورت وجود انسداد بینی ممکن است با مشکل روبرو شوند. این سواب چند ثانیه در محل خود باقی می ماند تا ترشحات را جذب کند و خطر عطسه را افزایش میابد. در تهیه سواب OP احتمال رفلکس گگ و سرفه بیماران در حین عمل زیاد است. علاوه برآن، هر دو روش سواب NP و OP می توانند باعث خونریزی شوند.[۲۱] (به ویژه در بیماران مبتلا به ترومبوسیتوپنی).[۱۲] جمع آوری این نمونه ها نیاز به تماس نزدیک بین کارکنان مراقبت های بهداشتی و بیماران دارد، که منجر به عفونت حدود ۲۰درصد از کارکنان و در برخی از موارد منجر به مرگ شده است. علاوه بر آن، این تکنیک به چندین ساعت تا ۱ روز، برای اعلام نتایج نیاز دارد، بنابراین احتمال تشخیص سریع در میدان های غربالگری جمعی کاهش می یابد.[۲]

مزایای استفاده از بزاق به عنوان نمونه تشخیصی-SARS CoV-2:

بیمار به تنهایی و بدون هیچ گونه ناراحتی میتواند بزاق خود را جمع آوری کند، برای مدیریت آن نیاز به پرسنل تخصصی نیست و خطرات برای اپراتور کاهش می یابد.[۲] این امر زمان و هزینه مربوط به جمع آوری نمونه را کاهش می دهد، می تواند در مواردی که اتاق های تهویه منفی وجود ندارد، مانند: کلینیک های سرپایی، اجتماعات یا مناطق خانگی انجام شود.[۲۱] بزاق ایمن تر از نمونه گیری سرم (بدون سوزن) است، حمل و ذخیره سازی آن مقرون به صرفه تر از سرم است. بزاق لخته نمی شود و راحت تر از خون قابل آزمایش است و نیازی به کادر پزشکی آموزش دیده ندارد. خطرات آلودگی متقابل را به حداقل می رساند.[۱۲] نمونه های بزاق را می توان در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد به مدت چند سال با تخریب کمی ذخیره کرد.[۴] با استفاده از توالی ژنوم نمونه های بزاقی بیماران کوییید۱۹ می توان انواع جدید و جهش یافته SARS-CoV-2 را شناسایی کرد.[۳۰] برای اثبات این امر، سازمان غذا و دارو (FDA)، اخیراً مجوز استفاده اضطراری از چندین آزمایش مبتنی بر بزاق را تأئید کرده است[۲]

معایب و مشکلات استفاده از بزاق:

یکی از نگرانی های استفاده از بزاق در آزمایش های مولکولی خودکار (بدون نیاز به مرحله جداگانه ای برای استخراج اسید نوکلئیک) این است که بزاق چسبناک ممکن است موجی انسداد کانال های مایع درون سیستم شود.[۱۸] مسئله مهم در تفکیک روشهای تشخیصی RNA ویروسی بزاق،

منحصر به این سیال زیستی است. دانش و نحوه برداشت بزاق با پیپت و چگالی بیشتر آن می تواند تفاوت بین حساسیت در مطالعات مختلف، را توضیح دهد. برخی پروتکلها نشان دادند، که بزاق همانندNPS ، در یک مایع استاندارد رقیق می شود؛ این عمل می تواند غلظت SARS-CoV-2را تغییر داده و حساسیت آزمایش ها را کاهش دهد.[۳۴] همچنین، چگالی بیشتر بزاق که باعث استفاده مشکل از پیپت می شود و تغییرات حجم پارامترها می توانند باعث تداخل نتایج شوند.[۳۴] بزاق حاوی آنزیم های گوارشی است که می تواند به طور بالقوه بر ثبات نمونه در حین جمع آوری و حمل خود تأثیر بگذارد.[۳۵] بنابراین انتخاب روش قوی تر برای افزایش حساسیت و ویژگی آزمایش مهم است. روشهای مختلفی برای استخراج RNA از بزاق موجود است، مانند روشهایی با استفاده از فنل و ایزوتیوسیانات گوانیدینیوم، یا ستونهای چرخشی غشای سیلیس یا کیتهای جداسازی RNA مبتنی بر مهره مغناطیسی. به طور کلی، استفاده از روش مهره مغناطیسی نتایج خوبی(۹۷/۲ ٪) را برای حساسیت بزاق، نشان داد.[۳۴] در حال حاضر، نمونه های بزاق برای استفاده در سیستم های خودکار، توسط سازندگان تأیید نشده است. با این حال، مطالعه ای نشان داد که نمونه بزاق نیز می تواند به عنوان یک سیستم خودکار و با حساسیت بالا در تشخیص ویروس های آنفلوانزا و ویروس های تنفسی مورد استفاده قرار گیرد.[۳۶]

تفاوت نتایج در زمانهای متفاوت نمونه گیری بزاق:

نتایج نمونه گیری های روزانه برنامه ریزی شده از بزاق خلفی اوروفارنکس، در ۲ مطالعه بررسی شد. پیشنهاد شد که نمونه های بزاق جمع آوری شده در صبح زود، بیشتر از مواردی که در اواخر روز به دست آمده، نتایج مثبتی را نشان می دهد.[۳۷] روند کاهش بار ویروسی تا شب وجود دارد و تفاوت بار ویروسی بین نمونه های صبح زود و هنگام خواب از نظر آماری قابل توجه است.[۳۸]

در اکثر مقالات مطالعه شده، "بزاق" رایج ترین اصطلاح، و در عین حال، بدون توضیح دقیق روش جمع آوری نمونه های بزاق بود. همچنین، هیچ مطالعه ای مستقیماً نوع نمونه گیری بزاق را مقایسه نکرده بود. اکثر مطالعات استفاده شده در این مقاله، بزرگسالان و ۱ مطالعه، بیماران اطفال را مورد ارزیابی قرار دادند.

روشها شامل: کشت ویروسی، RT-PCR، RT-qPCR، LDT، ELASA، cobas SARS-CoV2 test، Xpert Xpress BIOCREDIT COVID-19 Ag ، test، RAD، RT-LAMPمی باشد. همچنین از روشهای نمونه گیری: آب دهان غیرفعال (drooled saliva)، بزاق ناشی از سرفه، سواب دهانی، ترشحات غدد بزاقی و بزاق اوروفارنکس خلفی در مطالعات این مقاله استفاده شده است .

عدم سازگاری در روش های مورد استفاده برای جمع آوری بزاق و نمونه های دیگر، موجب کاهش کیفیت مطالعات مورد بررسی شده است.[۳۹]

نتیجه گیری:

بررسی مقالات مرور شده نشان میدهد که بزاق میتواند به عنوان یک نمونه تشخیصی بالقوه برای آزمایش کوویید۱۹ استفاده شود. با وجود این مزایا، بزاق به طور گسترده عملا در بالینی مورد استفاده قرار نمی گیرد. مانع اصلی این است که بزاق نمونه ی مورد تاییدی برای آزمایشات تشخیصی ویروس های تنفسی در پلتفرم سنجش سریع مولکولی نیست. اگرچه که استفاده از بزاق برای تشخیص کوویید۱۹، قبل از آگاهی جامع از محدودیت های آن، می تواند مسائل آینده را در مورد استفاده از آزمایش های تشخیصی بزاق برای سایر بیماری های سیستمیک افزایش دهد. بزاق به

عنوان نمونه غیر تهاجمی که توسط خود فرد به تنهایی قابل جمع آوری است میتواند با طراحی برنامه ای استراتژیک برای تشخیص نمونه های جهش یافته این ویروس در آینده مورد استفاده و بررسی قرار گیرد.

References:

1. To KKW, Tsang OTY, Yip CCY, Chan KH, Wu TC, Chan JMC, Leung WS, Chik TSH, Choi CYC, Kandamby DH, Lung DC, Tam AR, Poon RWS, Fung AYF, Hung IFN, Cheng VCC, Chan JFW, Yuen KY. Consistent detection of 2019 novel coronavirus in saliva. Clin Infect Dis. 2020;71(15):841–3.
2. Azzi L, Maurino V, Baj A, Dani M, d'Aiuto A, Fasano M, Lualdi M, Sessa F, Alberio T. Diagnostic Salivary Tests for SARS-CoV-2. J Dent Res. 2021;100(2):115–23.
3. Chen L, Zhao J, Peng J, Li X, Deng X, Geng Z, Shen Z, Guo F, Zhang Q, Jin Y, Wang L, Wang S. Detection of SARS-CoV-2 in saliva and characterization of oral symptoms in COVID-19 patients. Cell Prolif. 2020;53(12):1–7.
4. Han P. Saliva — Friend and Foe in the COVID-19 Outbreak. 2020.
5. Motamed B, Alaei A, Sedeghi M, Sharifzadeh S. A review on COVID-19 in dentistry. J Res Dent Sci. 2020; 17(4): 345-335.
6. Nagura-ikeda M, Imai K, Tabata S, Miyoshi K, Murahara N, Mizuno T. Clinical Evaluation of Self-Collected Saliva by Quantitative. J Clin Microbiol. 2020;58(9):1–9.
7. Rao M, Rashid FA, Sabri FSAH, Jamil NN, Seradja V, Abdullah NA, Ahmad H, Aren SL, Ali SAS, Ghazali M, Manaf AA, Talib H, Hashim R, Zain R, Thayan R, Amran F, Aris T, Ahmad N. COVID-19 screening test by using random oropharyngeal saliva. J Med Virol. 2021;93(4):2461–6.
8. Manabe YC, Reuland C, Yu T, Azamfirei R, Hardick JP, Church T, Self-Collected Oral Fluid Saliva Is Insensitive Compared with Nasal-Oropharyngeal Swabs in the Detection of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 in Outpatients. Open Forum Infect Dis. 2021;8(2):1–10.

9. Ott IM, Lu P. Saliva is more sensitive for SARS-CoV-2 detection in COVID-19 patients than nasopharyngeal swabs. 2020.
10. Sapkota D, Søland TM, Galtung HK, Sand LP, Giannecchini S, To KKW, Mendes-Correa MC, Giglio D, Hasséus B, Braz-Silva PH. COVID-19 salivary signature: diagnostic and research opportunities. J Clin Pathol. 2021;74(6):344–9.
11. Lalli MA, Langmade JS, Chen X, Fronick CC, Sawyer CS, Burcea LC, Wilkinson MN, Fulton RS, Heinz M, Buchser WJ, Head RD, Mitra RD, Milbrandt J. Rapid and Extraction-Free Detection of SARS-CoV-2 from Saliva by Colorimetric Reverse-Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification. Clin Chem. 2021;67(2):415–24.
12. 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(4).
13. Chen JHK, Yip CCY, Poon RWS, Chan KH, Cheng VCC, Hung IFN, Chan JFW, Yuen KY, To KKW. Evaluating the use of posterior oropharyngeal saliva in a point-of-care assay for the detection of SARS-CoV-2. Emerg Microbes Infect [Internet]. 2020;9(1):1356–9.
14.Chellasamy G, Arumugasamy SK, Govindaraju S. Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID- 19. The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect, the company 's public news and information. 2020;(January).
15. Baghizadeh Fini M. Oral saliva and COVID-19. Oral Oncol. 2020; 108:104821.
16. Xu H, Zhong L, Deng J, Peng J, Dan H, Zeng X, Li T, Chen Q. High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa. Int J Oral Sci [Internet]. 2020;12(1):1–5.
17. Santos CN, Rezende KM, de Olivera Neto NF, Okay TS, Braz-Silva PH, Bonecker M. Saliva: an important alternative for screening and monitoring of COVID-19 in children. Braz Oral Res. 2020; 34:1–8.
18. To KKW, Yip CCY, Lai CYW, Wong CKH, Ho DTY, Pang PKP, Ng ACK, Leung KH, Poon RWS, Chan KH, Cheng VCC, Hung IFN, Yuen KY. Saliva as a diagnostic specimen for testing respiratory virus by a point-of-care molecular assay: a diagnostic validity study. Clin Microbiol Infect. 2019;25(3):372–8.
19. Xu R, Cui B, Duan X, Zhang P, Zhou X, Yuan Q. Saliva: potential diagnostic value and transmission of 2019-nCoV. Int J Oral Sci [Internet]. 2020;12(1).
20. Warsi I, Khurshid Z, Shazam H, Umer MF, Imran E, Khan MO, Slowey PD, Goodson JM. Saliva Exhibits High Sensitivity and Specificity for the Detection of SARS-COV-2. Diseases. 2021;9(2):38.
21. Harikrishnan P. Saliva as a Potential Diagnostic Specimen for COVID-19 Testing. J Craniofac Surg. 2020;31(6): e653–5.
22. Yu F, Xie G, Zheng S, Han D, Bao J, Zhang D, Feng B, Wang Q, Zou Q, Wang R, Yang X, Chen W, Lou B, Chen Y. Assessment of the Diagnostic Ability of Four Detection Methods Using Three Sample Types of COVID-19 Patients. Front Cell Infect Microbiol. 2021;11(June):1–9.
23. Landry ML, Criscuolo J, Peaper DR. Challenges in use of saliva for detection of SARS CoV-2 RNA in symptomatic outpatients. J Clin Virol [Internet]. 2020;130(July):104567.
24. Iwasaki S, Fujisawa S, Nakakubo S, Kamada K, Yamashita Y, Fukumoto T, Sato K, Oguri S, Taki K, Senjo H, Sugita J, Hayasaka K, Konno S, Nishida M, Teshima T. Comparison of SARS-CoV-2 detection in nasopharyngeal swab and saliva. J Infect. 2020;81(2): e145–7.
25. Simonov M, Datta R, Handoko R, Naushad N, Sewanan L, Baldez J, Dela-Cruz CS, Farhadian S, Martinello RA, Iwasaki A, Grubaugh ND, Ko AI. Saliva or Nasopharyngeal Swab Specimens for Detection of SARS-CoV-2. N Engl J Med. 2020; 383:1283.
26. Tsujimoto Y, Terada J, Kimura M, Moriya A, Motohashi A, Izumi S, Kawajiri K, Hakkaku K, Morishita M, Saito S, Takumida H, Watanabe H, Tsukada A, Morita C, Yamaguchi Y, Katsuno T, Kusaba Y, Sakamoto K, Hashimoto M, Suzuki M, Takasaki J, Hojo M, Miyoshi-Akiyama T, Sugiyama H. Diagnostic accuracy of nasopharyngeal swab, nasal swab and saliva swab samples for the detection of SARS-CoV-2 using RT-PCR. Infect Dis (Auckl) [Internet]. 2021;53(8):581–9.
27. Tutuncu EE, Ozgur D, Karamese M. Saliva samples for detection of SARS-CoV-2 in mildly symptomatic and asymptomatic patients. J Med Virol. 2021;93(5):2932–7.
28. Li C, Ren L. Recent progress on the diagnosis of 2019 Novel Coronavirus. Transbound Emerg Dis. 2020;67(4):1485–91.

29. Leung ECM, Chow VCY, Lee MKP, Tang KPS, Li DKC, Lai RWM. Evaluation of the Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV Assay for Simultaneous Detection of SARS-CoV-2, Influenza A and B Viruses, and Respiratory Syncytial Virus in Nasopharyngeal Specimens. J Clin Microbiol. 2021;59(4):1–9.
30. McCormick-Baw C, Morgan K, Gaffney D, Cazares Y, Jaworski K, Byrd A, Molberg K, Cavuoti D. Saliva as an alternate specimen source for detection of sarscov-2 in symptomatic patients using cepheid xpert xpress sars-cov-2. J Clin Microbiol. 2020;58(8):2–3.
31. Michailidou E, Poulopoulos A, Tzimagiorgis G. Salivary diagnostics of the novel coronavirus SARS-CoV-2 (COVID-19). Oral Dis. 2020;(October):1–11.
32. Uwamino Y, Nagata M, Aoki W, Nakagawa T. Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID- 19. The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect, the company' s public news and information. 2020;(January).
33. Ning B, Yu T, Zhang S, Huang Z, Tian D, Lin Z, Niu A, Golden N, Hensley K, Threeton B, Lyon CJ, Yin XM, Roy CJ, Saba NS, Rappaport J, Wei Q, Hu TY. A smartphone-read ultrasensitive and quantitative saliva test for COVID-19. Sci Adv. 2021;7(2):1–15.
34. Caixeta DC, Oliveira SW, Cardoso-Sousa L, Cunha TM, Goulart LR, Martins MM, Marin LM, Jardim ACG, Siqueira WL, Sabino-Silva R. One-Year Update on Salivary Diagnostic of COVID-19. Front Public Heal. 2021;9(May):1–8.
35. SoRelle JA, Mahimainathan L, McCormick-Baw C, Cavuoti D, Lee F, Thomas A, Sarode R, Clark AE, Muthukumar A. Saliva for use with a point of care assay for the rapid diagnosis of COVID-19. Clin Chim Acta [Internet]. 2020;510(July):685–6.
36. Chen JHK, Yip CCY, Poon RWS, Chan KH, Cheng VCC, Hung IFN, Chan JFW, Yuen KY, To KKW. Evaluating the use of posterior oropharyngeal saliva in a point-of-care assay for the detection of SARS-CoV-2. Emerg Microbes Infect. 2020;9(1):1356–9.
37. Wong M, Huang J, Lai C, Ng R, Chan F, Chan P. Detection of SARS-CoV-2 RNA in fecal specimens of patients with confirmed COVID-19: A meta-analysis. Journal of Infection. 2020;81(2): e31-e38.
38. Hung DLL, Li X, Chiu KHY, Yip CCY, To KKW, Chan JFW, Sridhar S, Chung TWH, Lung KC, Liu RWT, Kwan GSW, Hung IFN, Cheng VCC, Yuen KY. Early-morning vs spot posterior oropharyngeal saliva for diagnosis of sars-cov-2 infection: Implication of timing of specimen collection for community-wide screening. Open Forum Infect Dis. 2020;7(6).
39. Comber L, Walsh KA, Jordan K, O'Brien KK, Clyne B, Teljeur C, Drummond L, Carty PG, De Gascun CF, Smith SM, Harrington P, Ryan M, O'Neill M. Alternative clinical specimens for the detection of SARS-CoV-2: A rapid review. Rev Med Virol. 2021;31(4).
40. To KKW, Tsang OTY, Leung WS, Tam AR, Wu TC, Lung DC, Yip CCY, Cai JP, Chan JMC, Chik TSH, Lau DPL, Choi CYC, Chen LL, Chan WM, Chan KH, Ip JD, Ng ACK, Poon RWS, Luo CT, Cheng VCC, Chan JFW, Hung IFN, Chen Z, Chen H, Yuen KY. Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study. Lancet Infect Dis [Internet]. 2020;20(5):565–74.
41. Azzi L, Carcano G, Dalla Gasperina D, Sessa F, Maurino V, Baj A. Two cases of COVID-19 with positive salivary and negative pharyngeal or respiratory swabs at hospital discharge: A rising concern. Oral Dis. 2021;27(S3):707–9.
42. Azzi L, Carcano G, Gianfagna F, Grossi P, Gasperina DD, Genoni A, Fasano M, Sessa F, Tettamanti L, Carinci F, Maurino V, Rossi A, Tagliabue A, Baj A. Saliva is a reliable tool to detect SARS-CoV-2. J Infect [Internet]. 2020;81(1): e45–50.
43. Mak GCK, Cheng PKC, Lau SSY, Wong KKY, Lau CS, Lam ETK, Chan RCW, Tsang DNC. Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID-.
44. Zhang W, Du RH, Li B, Zheng XS, Yang X Lou, Hu B, Wang YY, Xiao GF, Yan B, Shi ZL, Zhou P. Molecular and serological investigation of 2019-nCoV infected patients: implication of multiple shedding routes. Emerg Microbes Infect. 2020;9(1):386–9.
45. Xun G, Lane ST, Petrov VA, Pepa BE, Zhao H. A rapid, accurate, scalable, and portable testing system for COVID-19 diagnosis. Nat Commun [Internet]. 2021;12(1).
46. MacMullan MA, Ibrayeva A, Trettner K, Deming L, Das S, Tran F, Moreno JR, Casian JG, Chellamuthu P, Kraft J, Kozak K, Turner FE, Slepnev VI, Le Page LM. ELISA detection of SARS-CoV-2 antibodies in saliva. Sci Rep [Internet]. 2020;10(1):1–8.
47. Han MS, Seong M-W, Kim N, Shin S, Cho SI, Park H, Kim TS, Park SS, Choi EH. Viral RNA Load in Mildly. Emerg Infect Dis. 2020;26(10):2497–9.