



Repositorio *Ámbito Odontológico*(06.04.2020)

[Alta expresión del receptor ACE2 del 2019-nCoV en las células epiteliales de la mucosa oral](#)

Conocemos que ACE2 es el principal receptor para 2019-nCoV y juega un rol crucial en la entrada del virus a la célula. Para investigar la potencial ruta de infección de 2019-nCoV en la mucosa de la cavidad oral se recogieron los perfiles de RNA-seq de dos bases de datos públicas The Cancer Genome Atlas (TCGA) y la Functional Annotation of The Mammalian Genome Cap Analysis of Gene Expression (FANTOM5 CAGE). Los datos de perfiles de RNA-seq de 13 organ types con tejido normal para carcinoma de TCGA y 14 de tejido normal de FANTOM5 CAGE se analizaron para explorar y validar la expresión de ACE3 en la mucosa de la cavidad oral. Además, se utilizaron transcriptomas de células aisladas de datos independientes in house para identificar y confirmar la expresión celular de ACE3 y su proporción en la cavidad oral. Los resultados demostraron que la ACE2 se expresaba en la mucosa de la cavidad oral. Este receptor era especialmente frecuente en las células epiteliales de la lengua. Estos hallazgos explican el mecanismo de base por el que la cavidad oral condiciona un riesgo potencial para la susceptibilidad a la infección por 2019-nCoV y proporciona un pieza en la evidencia para la futura estrategia de prevención en las clínicas dentales así como en la vida normal.

[Prestación de servicios de salud en 48 hospitales dentales durante la epidemia de COVID-19 en China](#)

Objetivos. Comprobar el estado en la prestación de servicios de salud de hospitales dentales durante la epidemia de COVID-19 en China y para evaluar las diferencias regionales en telemedicina. Materiales y métodos. Se investigó la prestación de servicios de salud de los hospitales dentales. Se recogió y analizó el estado de los servicios dentales no urgentes, los servicios dentales urgentes y las consultas a distancia profesionales y su distribución

geográfica. Resultados Todos los hospitales (48) suspendieron los tratamientos dentales no urgentes y realizaron únicamente tratamientos urgentes. El 90% de ellos notificaron los cambios vía electrónica y el 69% ofrecieron consultas telemáticas profesionales. La tasa de penetración de la tecnología telemática fue significativamente más alta en las regiones del este que en las del oeste o el centro. Conclusiones. Se produjo un cambio significativo en la prestación del servicio de salud en los hospitales dentales de China durante la epidemia de COVID-19 y un amplio uso de la telemedicina en las regiones del este. Relevancia clínica Este artículo demuestra que los servicios de salud dental se afectaron significativamente por la epidemia de COVID-19 en China, que podría llevar a un impacto a largo plazo en los tratamientos dentales en el futuro.

[Las células epiteliales de los conductos salivales son una diana temprana del coronavirus del síndrome respiratorio agudo grave en el tracto respiratorio superior del Macaco Rhesus.](#)

La diseminación del coronavirus del SARS en gotas de saliva juega un rol crítico en la transmisión viral. La fuente de esta alta carga viral en saliva, sin embargo, permanece desconocida. Investigamos las células diana temprana de la infección en el tracto respiratorio completo de macacos chinos tras la inoculación nasal de un virus pseudotipado y un SARS-CoV patogénico. Encontramos que las células ACE2 positivas están ampliamente distribuidas en el tracto aéreo superior y que las células epiteliales ACE2 que recubren los conductos de las glándulas salivales son las más tempranamente infectadas. Nuestros hallazgos tienen implicaciones para el diagnóstico temprano y la prevención de SARS-CoV.





Repositorio Ámbito Odontológico(06.04.2020)

[Detección consistente del nuevo Coronavirus 2019 en saliva](#)

Kelvin Kai-Wang To,1,2,3,a Owen Tak-Yin Tsang,4,a Cyril Chik-Yan Yip,1,2,a Kwok-Hung Chan,1,a Tak-Chiu Wu,5 Jacky Man-Chun Chan,4 Wai-Shing Leung,4 Thomas Shiu-Hong Chik,4 Chris Yau-Chung Choi,4 Darshana H. Kandamby,6 David Christopher Lung,7 Anthony Raymond Tam,8 Rosana Wing-Shan Poon,1,2 Agnes Yim-Fong Fung,1 Ivan Fan-Ngai Hung,8 Vincent Chi-Chung Cheng,1,2 Jasper Fuk-Woo Chan,1,2,3 and Kwok-Yung Yuen1,2,3

1State Key Laboratory for Emerging Infectious Diseases, Department of Microbiology, Carol Yu Centre for Infection, Li Ka Shing Faculty of Medicine, The University of Hong Kong, Hong Kong Special Administrative Region, China, 2Department of Microbiology, Queen Mary Hospital, Hong Kong Special Administrative Region, China, 3Department of Clinical Microbiology and Infection Control, The University of Hong Kong–Shenzhen Hospital, Shenzhen, China, 4Department of Medicine and Geriatrics, Princess Margaret Hospital, Hong Kong Special Administrative Region, China, 5Department of Medicine, Queen Elizabeth Hospital, Hong Kong Special Administrative Region, China, 6Intensive Care Unit, Princess Margaret Hospital, Hong Kong Special Administrative Region, China, 7Department of Pathology, Queen Elizabeth Hospital, Hong Kong Special Administrative Region, China, and 8Department of Medicine, Queen Mary Hospital, Hong Kong Special Administrative Region, China

El nuevo coronavirus de 2019 (2019-nCoV) fue detectado en la saliva auto-recogida del 91,7% (11/12 una serie de casos podían producir esputo para pacientes). La monitorización de la carga viral detectó una tendencia decreciente en general. Se encontró que existía virus vivo en la saliva, mediante cultivos. La saliva es un medio prometedor, no invasivo, para diagnóstico, monitorización y control de infección en pacientes con Covid-19.

En 2003 el síndrome respiratorio agudo severo por coronavirus (SARS-CoV) causó un brote global

devastador con una tasa de letalidad del 10% (1). En diciembre de 2019, un coronavirus de tipo SARS-CoV (2019-nCoV), ha aparecido en la provincia China de Hubei y se ha extendido rápidamente por la China continental y a otras partes del mundo (2,3). El 2019n-CoV pertenece al género *betacoronavirus* del linaje B y está relacionado filogenéticamente con los coronavirus tipo SARS de los murciélagos (2). Sin embargo, las proteínas ORF8 y ORF3 difieren significativamente de otros coronavirus de tipo SARS conocidos, que pueden conferir diferencias entre patogenicidad y transmisibilidad del SARS-CoV (4). Similar al SARS-CoV, el 2019-nCoV puede ser transmitido entre humanos muy fácilmente. Se han reportado casos de agrupamiento familiar (2). La detección rápida y exacta del 2019-nCoV es crucial para controlar los brotes a nivel comunitario y hospitalario. La toma de muestras nasofaríngea y orofaríngea son las recomendadas para diagnosticar los tipos de 2019-nCoV de vías aéreas superiores. Sin embargo la recolección de estas muestras requiere un contacto muy cercano entre el personal sanitario y los pacientes, lo que pone en riesgo la transmisión del virus al personal sanitario. Además la recolección nasofaríngea y orofaríngea puede producir molestias, y puede causar sangrado, especialmente en pacientes con trombocitopenia (2). Por ello, las muestras nasofaríngeas y orofaríngeas no son las deseables para la monitorización seriada de la carga viral. La toma de esputos supone una muestra del tracto respiratorio inferior no invasivo, pero sólo el 28 % de los pacientes con 2019-nCoV en evaluación diagnóstica (3).





Repositorio Ámbito Odontológico(06.04.2020)

Las muestras en saliva se pueden obtener fácilmente pidiendo a los pacientes que escupan en un recipiente estéril. Como no precisa de procedimientos invasivos, la recolección de saliva puede minimizar en gran medida la probabilidad de exponer a los profesionales sanitarios al 2019-nCoV. Ya hemos demostrado con anterioridad que la saliva tiene una alta concordancia más del 90 % con las muestras nasofaríngeas en la detección de virus, incluyendo el coronavirus (5,6). En algunos pacientes el coronavirus solo se detectó en saliva pero no en aspirado nasofaríngeo (5). La saliva además ha sido utilizada para realizar el screening de virus respiratorios en pacientes hospitalizados sin fiebre o sin síntomas respiratorios (7). El 2019-nCoV es detectado en saliva a altos títulos (8).

Dados los beneficios de las pruebas en saliva, hemos testado la presencia de 2019-nCoV en pacientes con sospecha de la infección basada en criterios clínicos y epidemiológicos marcados por el Centro de Protección de Salud de Hong Kong. Aquí presentamos los resultados de los tests salivales.

MÉTODOS

MUESTRAS DE PACIENTES

En Hong Kong, los tests de 2019-nCoV se llevaron a cabo por los servicios del laboratorio de salud pública de Hong Kong para pacientes que cumplían los criterios de inclusión o de vigilancia (9). Se considera confirmado de la infección un paciente en el que el 2019-nCoV es detectado en muestras nasofaríngeas o de esputo.

Se recogía la saliva pidiéndole al paciente que escupiera saliva de la garganta en un contenedor estéril y se añadieron 2 mL de medio de transporte viral como se ha descrito con anterioridad (5,6). El estudio fue aprobado por el comité de revisión de instituciones de la Universidad de Hong Kong / autoridad hospitalaria de Hong Kong- agrupación oeste (UW13-372).

EXTRACCIÓN DEL ÁCIDO NUCLEICO Y

TRANSCRIPCIÓN INVERSA-PCR CUANTITATIVA PARA 2019-nCoV

Las muestras de saliva se sometieron a la extracción total de ácido nucleico mediante NucliSENS easy MAG (Biomerieux) como describimos con anterioridad (5). Cada muestra se mezclaba con un buffer de lisis. Después de la extracción el total de ácidos nucleicos se recuperaba usando 55 µL de elución tampón. Hicimos una PCR cuantitativa por transcripción inversa en tiempo real y en un solo paso con el objetivo de atacar en gen S del coronavirus chino, por medio del kit de Roche QuantiNova SYBR Green RT-PCR Kit (Qiagen) en una termocicladora ligera 480 como hemos escrito anteriormente (2).

CULTIVO VIRAL

El cultivo de 2019-nCoV se llevó a cabo en una instalación con nivel 3 de bioseguridad. Las células Vero E6 fueron sembradas con 1 mL de medio mínimo esencial (MEM) a 2×10^5 células/mL en tubos de cultivo e incubadas a 37°C en un incubador de dióxido de carbono durante 1-2 días hasta su confluencia para inoculación. Cada muestra de saliva fue inoculada en duplicado, 1 tubo contenía tripsina tratada con tosilsulfonil fenalanin clorometamil ketona (0,5µg/mL) en MEM libre de suero y el otro tubo contenía MEM con 1% de proteína del suero de ternera. En cada tubo se inoculó 0,2 mL de saliva y se incubó en posición inclinada para que el inoculado cubriera la monocapa, durante 60 minutos a 37°C. A continuación 1 mL de cada uno de los tubos se añadía y se incubaba en un aparato de rodillos a la velocidad de 12 a 15 revoluciones por hora. El efecto citopático del virus se examinaba diariamente durante 7 días.

RESULTADOS

Se incluyó a un total de 12 pacientes con confirmación de laboratorio de la infección por el 2019-nCoV de Hong Kong. La media de edad era de 62,5 años, comprendida entre los 37 y los 75. Había 5 mujeres y 7 hombres.





Repositorio Ámbito Odontológico(06.04.2020)

. En el momento de escribir los resultados, todos los pacientes seguían hospitalizados. Las muestras de saliva se recogían a los dos días de hospitalización de media (rango 0-7 días). (Figura 1).

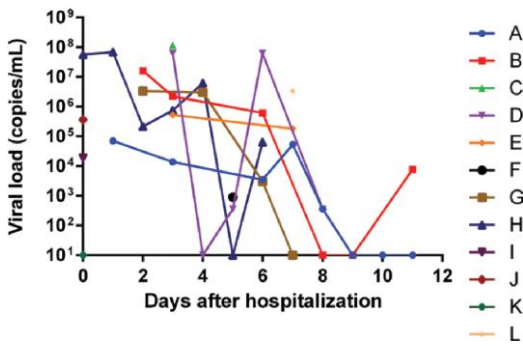


Figura 1. Carga viral en saliva de pacientes con

infección por el nuevo coronavirus de 2019. Para esta tabla a las muestras con carga viral indetectable se les asigna un valor de 10¹.

El 2019-nCoV fue detectado en las muestras iniciales de saliva de 11 pacientes (91,7%). Para el paciente K, la primera muestra de saliva recogida en el día de la admisión en el hospital dio negativo. La media de carga viral en las primeras muestras de saliva era de $3,3 \times 10^6$ copias/mL (rango $9,9 \times 10^2$ a $1,2 \times 10^8$ copias/mL).

Las muestras de saliva seriadas fueron disponibles para 6 pacientes. La carga viral era más alta en muestras más tempranas de 5 pacientes (83,3%). En el paciente H la carga viral era significativamente más alta el día después de la hospitalización ($6,8 \times 10^7$ copias/mL). En el paciente B la diseminación viral se detectó 11 días después de su hospitalización. En 33 pacientes cuyos tests en muestras nasofaríngeas habían dado negativo, todos los tests de saliva dieron también resultados negativos. En el momento de escribir este artículo los cultivos eran positivos para 3 pacientes y negativos para 2.

DISCUSIÓN

En este estudio hemos demostrado que el 2019n-CoV se ha detectado en muestras de 11 de los 12 pacientes estudiados. Las muestras seriadas de saliva mostraron una disminución en los niveles de ARN

2019n-CoV después de la hospitalización. Los cultivos demostraron que había virus vivo en la saliva de 3 pacientes.

Existen varias ventajas al usar muestras salivales para el diagnóstico de 2019n-CoV. En primer lugar, la saliva puede ser recogida fácilmente sin procedimientos invasivos. Por tanto, el uso de muestras salivales podría reducir el riesgo de transmisión nosocomial del 2019n-CoV. Se han encontrado casos de infección entre el personal sanitario, con al menos un fallecimiento reportado (10). En segundo lugar, el uso de saliva permitirá la recolección de muestras fuera del ambiente hospitalario donde no existieran salas de aislamiento tales como clínicas ambulatorias. En el entorno en que muchos pacientes requirieran screening, la saliva sería el medio de recogida más práctico y menos invasivo. En tercer lugar, como no son necesarios los sanitarios para la obtención de muestras, esto eliminaría la espera en la obtención de las muestras y por ello los resultados se obtendrían más rápidamente. Esto es especialmente importante en clínicas saturadas en las que el personal disponible está muy limitado.

Entre los pacientes con muestras seriadas disponibles de saliva, hubo una disminución general de la carga viral, aunque 1 de los pacientes mostró diseminación en saliva hasta 11 días después de la hospitalización. La utilización de saliva es preferible a la de las muestras nasofaríngeas u orofaríngeas para la monitorización de la carga viral porque esto reduce el disconfort del paciente y reduce los riesgos a los trabajadores sanitarios durante la toma de muestras repetida. Nuestra experiencia con el SARS en 2003 demostró que la carga viral a menudo mostraba un pico a los 10 días del principio de la enfermedad. Por ello, la detección precoz y el aislamiento de los casos era estratégica para el control de la infección y ofrece una ventana de oportunidad para la disminución del pico de carga viral con la terapia antirretroviral.



Repositorio Ámbito Odontológico(06.04.2020)

El cultivo viral positivo indica que la saliva contiene al virus que puede producir la transmisión. Los virus respiratorios son considerados como transmisibles de persona a persona por contacto directo o indirecto, vía gotitas de finas a gruesas. La saliva puede ser expelida al toser y las gotitas que contienen el virus de la gripe son halladas incluso durante la respiración normal (11). Por ello, el 2019n-CoV puede ser transmitido por saliva directa o indirectamente incluso por pacientes sin tos ni otros síntomas respiratorios. Nuestros hallazgos refuerzan la idea del uso de mascarillas quirúrgicas como medida de control.

El SARS-CoV se ha demostrado que infecta las células epiteliales de los conductos salivales del mono macaco rhesus (12). La presencia de 2019n-CoV en la saliva de pacientes sugiere la posibilidad de una infección de glándulas salivales. Sin embargo es interesante recalcar que las muestras salivales no sólo contienen saliva secretada de glándulas salivales mayores o menores sino que también contienen secreciones de la nasofaringe o pulmonares que llegan vía la acción de los cilios que recubren las vías respiratorias. Son necesarios futuros estudios para delinear las fuentes del 2019n-CoV en saliva. Nuestros resultados han demostrado el potencial de la saliva para ser considerado una muestra no invasiva para el diagnóstico y monitorización de la carga viral de 2019n-CoV. Debido a que la saliva puede ser obtenida por los propios pacientes sin procedimientos invasivos el uso de muestras salivales reducirá el riesgo de transmisión nosocomial 2019n-CoV y es ideal para situaciones en las cuales la recogida de muestras nasofaríngeas puede estar contraindicada.

References

1. Peiris JS, Lai ST, Poon LL, et al; SARS Study Group. Coronavirus as a possible cause of severe acute respiratory syndrome. *Lancet* **2003**; 361:1319–25.
2. Chan JF, Yuan S, Kok KH, et al. A familial cluster of

pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. *Lancet* **2020**. pii: S0140-6736(20)30154-9.

3. Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* **2020**. pii: S0140-6736(20)30183-5.

4. Chan JF, Kok KH, Zhu Z, et al. Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan. *Emerg Microbes Infect* **2020**; 9:221–36.

5. To KK, Lu L, Yip CC, et al. Additional molecular testing of saliva specimens improves the detection of respiratory viruses. *Emerg Microbes Infect* **2017**; 6:e49.

6. To KKW, Yip CCY, Lai CYW, et al. Saliva as a diagnostic specimen for testing respiratory virus by a point-of-care molecular assay: a diagnostic validity study. *Clin Microbiol Infect* **2019**; 25:372–8.

7. To KKW, Chan KH, Ho J, et al. Respiratory virus infection among hospitalized adult patients with or without clinically apparent respiratory infection: a prospective cohort study. *Clin Microbiol Infect* **2019**; 25:1539–45.

8. Wang WK, Chen SY, Liu IJ, et al; SARS Research Group of the National Taiwan University/National Taiwan University Hospital. Detection of SARS-associated coronavirus in throat wash and saliva in early diagnosis. *Emerg Infect Dis* **2004**; 10:1213–9.

9. Centre for Health Protection. Severe respiratory disease associated with a novel infectious agent—letters to doctors. **2020**. Available at: <https://www.chp.gov.hk/en/miniweb/letters/100063.html>. Accessed 5 February 2020.

10. China Daily. Wuhan reports first doctor death from coronavirus. **2020**. Available at: <https://www.chinadaily.com.cn/a/202001/25/WS5e2bb1b6a31012821727333a.html>. Accessed 1 February 2020.

11. Yan J, Grantham M, Pantelic J, et al; EMIT Consortium. Infectious virus in exhaled breath of symptomatic seasonal influenza cases from a college community. *Proc Natl Acad Sci USA* **2018**; 115:1081–6.

12. Liu L, Wei Q, Alvarez X, et al. Epithelial cells lining salivary gland ducts are early target cells of severe acute respiratory syndrome coronavirus infection in the upper respiratory

