

PROTOCOL AFNAME EN ANALYSE SPEEKSELSTALEN VOOR SARS-COV-2

30/11/2020

1. CONTEXT

- De wetenschappelijke evidentie rond verschillende SARS-CoV-2 testmethodes en staalafnames evolueert snel. Meer informatie is ondertussen beschikbaar aangaande het nut van speekselstalen, en hun gebruik wordt momenteel in verschillende situaties geëvalueerd of opgestart. Er is daarom nood aan richtlijnen betreffende de juiste uitvoering van dit soort staalafnames.
- De term “speekselstaal” verwijst ook naar slijmstalen afgenomen achterin de keel. Het huidige protocol betreft enkel afnames van speeksel.
- De indicatie voor het gebruik van speekselstalen wordt regelmatig geëvalueerd in functie van nieuwe wetenschappelijke gegevens en de evolutie van de epidemie. Updates worden gepubliceerd op de website van [Sciensano](https://www.sciensano.be)¹.

2. PROCEDURES VOOR STAALAFNAME

- Speeksel wordt verzameld via spuwen in een recipiënt. Er zijn verschillende kits op de markt voor het afnemen van speeksel. Sommige van deze kits hebben een recipiënt met een buffer vloeistof, andere niet. In het geval van een recipiënt zonder buffer vloeistof wordt best een steriel recipiënt gebruikt. De keuze van het type recipiënt/device hangt o.a. af van de gebruiksvriendelijkheid en de doelgroep (kinderen versus ouderen). In alle geval, moet het een recipiënt/device met CE-markering zijn, of een dat door de FAGG een afwijking van de normale conformiteitsprocedures heeft gekregen.
- De afnamemethode kan verschillen per kit, en, indien beschikbaar, worden de kit-specifieke instructies gevolgd.
- De hoeveelheid speeksel te verzamelen hangt af van het type recipiënt, en met name van de hoeveelheid buffer reeds aanwezig. De totale hoeveelheid speeksel plus buffer is best minimaal 1,5 ml, maar liefst niet meer dan 5 ml. Men dient er op te letten dat het effectief speeksel betreft, en niet sputum.
- Er wordt bij voorkeur ochtendspeeksel (voor of kort na het opstaan) gebruikt, maar dit is geen absolute vereiste. In ieder geval moet een afname vanaf de late namiddag, en zeker 's avonds laat, vermeden worden.
- Er mag geen speeksel afgenomen worden kort na een maaltijd. Zorg ervoor dat de persoon de voorbije 30 minuten niet heeft gegeten, gedronken, gerookt, of kauwgom geconsumeerd.
- Bij voorkeur wordt speeksel verkregen via het schrapen van de keel. Dit laat toe om posterieure orofaryngeale secreties ('deep throat saliva') te verkrijgen. Tijdens het verzamelen en het opwekken van speeksel in de mond kan de persoon best zijn mondmasker aanhouden.

¹ De laatste aanbevelingen betreffende de indicaties voor het gebruik van speekseltesten zijn beschikbaar in het Sciensano RAG advies van 3 November (https://covid-19.sciensano.be/sites/default/files/Covid19/20201103_Advice%20RAG_test%20strategy_update%20November_NL.pdf).

3. BEWARING EN TRANSPORT

- De bewaring van het afgenomen speekselstaal is afhankelijk van de al dan niet aanwezigheid van transportmedium. Dit verschilt van kit tot kit. Indien er geen transportmedium aanwezig is, dient het afgenomen speekselstaal zo snel mogelijk, en zeker niet langer dan enkele uren, in de koelkast geplaatst en bewaard te worden (4°C), tenzij de instructies anders vermelden. Indien er transportmedia aanwezig is, kan het staal op kamertemperatuur bewaard worden, maar niet in een verhitte ruimte of in een voertuig in de zon.

4. LABO-ANALYSE

4.1 Algemene overwegingen

- Op speekselstalen wordt net zoals op nasofaryngeale stalen een moleculaire test (PCR) uitgevoerd.
- Moleculaire tests op speeksel moeten worden uitgevoerd in overeenstemming met de kwaliteitseisen die gelden voor geaccrediteerde laboratoria (ISO 17025, ISO 15189).
- Er kan eventueel pooling van een klein aantal stalen toegepast worden. Een apart protocol wordt uitgewerkt voor het poolen van speekselstalen.

4.2 Minimale vereisten voor het uitvoeren van een moleculaire test op speekselstalen

- Er moet duidelijk worden aangegeven bij welke populatie het speekselstaal werd afgenomen. Voor deze of gelijkaardige populatie dienen er validatiegegevens beschikbaar te zijn.
- De toegepaste moleculaire methode moet voldoende gedetailleerd worden beschreven om door de professionele gebruiker te kunnen worden herhaald (zoals in de wetenschappelijke literatuur), met inbegrip van de virale targets, het maximale buffer/verduunningsvolume, de specifieke reagentia en de gebruikte apparatuur. Bij voorkeur wordt de methode gepubliceerd in een "peer-reviewed" wetenschappelijk tijdschrift.
- De gevoeligheid van de moleculaire test in de speekselstalen, of in afgeleide RNA stalen, moet worden gemeten door ten minste 50 speekselstalen te vergelijken met 50 gepaarde **positieve** nasofaryngeale wisserstalen die op hetzelfde moment zijn afgenomen. Ideaal moet er een gevoeligheid van ten minste 90% ten opzichte van de nasofaryngeale wissers worden bereikt voor stalen die, in de nasofaryngeale wisser PCR, een middelmatige tot hoge virale lading hebben. De vereiste drempelwaarde is afhankelijk van de gebruikte test.
- Betreffende de specificiteit van de moleculaire test in speekselstalen, of in afgeleide RNA stalen, gaat men er van uit dat die gelijkaardig is aan de specificiteit van de moleculaire tests in nasofaryngeale wisserstalen. Er moet dus geen aparte evaluatie gebeuren.
- De toepassing van de moleculaire test op speekselstalen, of op afgeleide RNA stalen, moet ten minste één positieve controle in de gebruikte RNA extractie matrix bevatten en bij elke afzonderlijke extractie en de daaruit voortvloeiende PCR worden opgenomen.
- Er moeten regelmatige controles (PCR-positieve en -negatieve controles, controles voor lot validatie, enz.) uitgevoerd worden.
- Technische uitvoering en klinische validatie moeten door correct opgeleid gekwalificeerd personeel worden gedaan.

De volgende personen hebben deelgenomen aan dit advies:

Gwenaëlle Ancia (ULiège); Emmanuel André (KULeuven); Emmanuel Bottieau (ITG); Fabrice Bureau (ULiège); Piet Cools (UGent); Olivier Denis (CHU-UCL Namur); Isabelle Desombere (Sciensano); Frédéric Fripiat (AViQ); Laurent Gillet (ULiège); Herman Goossens (UAntwerpen); Maria Goossens (Sciensano); Marie Pierre Hayette (CHU-ULiège); Niel Hens (UHasselt); Veronique Hutse (Sciensano); Greet Ieven (UZ-Antwerpen); Thomislav Kostyanev (UAntwerpen); Yves Lafort (Sciensano); Christine Lammens (UAntwerpen); Barbara Legiest (ZG); Tinne Lernout (Sciensano); Pieter Libin (UHasselt); Romain Mahieu (COCOM); Elizaveta Padalko (UZGent); Jeroen Poels (FAGG-AFMPS); Petra Schelstraete (UGent); Olivier Vandenberg (LHUB-ULB); Ann Van den Bruel (KuLeuven); Dimitri Van Der Linden (UCLouvain); Jo Vandesompele (BioGazelle); Sam van Goethem (UZ-Antwerpen); Bruno Verhasselt (UZ-Gent); Pieter Vermeersch (UZ-Leuven).