



Protocolo de detección de SARS-CoV-2 por técnica de PCR en tiempo real desde muestras de saliva.

Instituto de Salud Pública de Chile

23 de diciembre de 2020



TABLA DE CONTENIDOS

I. REVISIÓN DE LA EVIDENCIA	4
II. ANTECEDENTES EN CHILE.....	6
III. RECOLECCIÓN DE MUESTRA DE SALIVA (RT-qPCR COVID-19).....	8
IV. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA	10
V. BIBLIOGRAFÍA.....	14



COLABORADORES:

Dra. María Teresa Valenzuela, Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes.

Dra. Marcela Ferrés, Laboratorio Infectología y Virología Molecular, PUC.

Dra. Cecilia Perret, Laboratorio Infectología y Virología Molecular, PUC.

Dra. Katia Abarca, Laboratorio Infectología y Virología Molecular, PUC.

Dra. Sandra Solari, Laboratorios Clínicos Red de Salud UC Christus, PUC.

TM. Carlos Palma, Laboratorio Infectología y Virología Molecular, PUC.

TM. Ana María Contreras, Laboratorio Infectología y Virología Molecular, PUC.

TM. María Francisca Damm, Instituto de Ciencias Innovación en Medicina, Clínica Alemana, Universidad del Desarrollo.

Dra. Marcela Henríquez, Laboratorio E.L.S.A, Integramédica, BUPA.

Dra. Cecilia Vial, Instituto de Ciencias Innovación en Medicina, Clínica Alemana, Universidad del Desarrollo.

Dra. Anita Plaza, Laboratorio de Ecología de Enfermedades, Universidad Austral.

Dr. Claudio Verdugo, Laboratorio de Ecología de Enfermedades, Universidad Austral.

I. REVISIÓN DE LA EVIDENCIA

Durante esta pandemia, en que los países se enfrentan a grandes incertidumbres por evidencia científica insuficiente, lo cual es razonable por tiempo que ha transcurrido desde que se identificó el virus SARS-CoV-2 (1), la introducción de nuevas pruebas diagnósticas para detección del virus SARS-CoV-2, plantea retos a las autoridades reguladoras a nivel mundial para disponer de un sistema de controles regulatorios y un manejo prudente del riesgo, que sea capaz de proteger la salud pública.

Para asegurar el acceso oportuno a dispositivos médicos de diagnóstico *in vitro* para COVID-19, los países han flexibilizado sus normativas y procesos regulatorios. Así, por ejemplo, la Food and Drug Administration (FDA) de Estados Unidos, está otorgando autorización para uso de emergencia para pruebas diagnósticas *in vitro* para la detección y/o diagnóstico del brote de COVID-19 (2), debiendo equilibrar la necesidad urgente de acceso a estas pruebas y un nivel de supervisión que ayude a garantizar el desempeño adecuado de estas, con base a la información disponible y proporcionada por los fabricantes. Esta situación sirve para ilustrar la utilización práctica del Principio de Precaución, usualmente aplicado cuando hay un alto grado de incertidumbre científica y hay necesidad de tomar acciones aun cuando no hay evidencia absoluta.

La autorización del uso de emergencia es válida solo mientras dure la emergencia declarada y para un uso previsto acotado, por ejemplo, solo para uso en investigación, y además debe hacerse un seguimiento diario por si cambian las circunstancias.

Es importante tener en cuenta que el protocolo de la Universidad de Yale de acuerdo a lo que informa en el sitio oficial: SalivaDirect™ no ha sido aprobado por la FDA en términos regulatorios establecidos habitualmente, sino que cuenta con una autorización para uso de emergencia (provisoria) por laboratorios autorizados, en el contexto de la pandemia. La prueba ha sido autorizada solo para la detección de ácido nucleico del SARS-CoV-2, no para otros virus o patógenos. Esta prueba solo está autorizada mientras dure la declaración de que existen circunstancias que justifiquen la autorización del uso de emergencia de pruebas de diagnóstico *in vitro* para la detección y/o diagnóstico de COVID-19, a menos que la autorización sea cancelada o revocada previamente (3, 4).

Los laboratorios de alta complejidad deben solicitar autorización a Yale para convertirse en un laboratorio designado para la utilización de este protocolo, ya que requieren el cumplimiento de todos los requisitos y dispositivos médicos que ellos recomiendan, además de llevar a cabo el protocolo tal como se describe. (8)

Por otra parte, es importante destacar que, en el contexto pandémico, la fase posterior a la autorización para uso de emergencia adquiere una dimensión aún más relevante para proteger a los usuarios y a los profesionales de la salud. Por ello, las autoridades reguladoras incluyen un plan de vigilancia posterior a la autorización que permita prevenir y detectar los eventos e incidentes relacionados con estos productos y responder a ellos de manera adecuada y oportuna.

En este sentido, la saliva se ha propuesto como una muestra alternativa, especialmente porque se puede tomar fácilmente sin procedimientos invasivos o incómodos, y minimizando la exposición potencial del trabajador de salud. Sin embargo, hay poca evidencia científica que respalde el uso de muestras de saliva para la detección de COVID-19 y a la fecha la OMS/OPS sigue sin recomendar el uso de este tipo de muestra (5, 6).

Se debe destacar que es suficiente con que **un** laboratorio realice la validación metodológica, cumpliendo con los estándares básicos (estándar CLSI), para que los demás repliquen el protocolo sin tener que validarlo ellos de manera paralela. Basta con que verifiquen los valores con los de sus determinaciones para que lo puedan utilizar.

De acuerdo a la revisión de la literatura, para evaluar la capacidad del test para detectar SARS-CoV-2 en muestra de saliva, se debe validar considerando los siguientes aspectos estadísticos y asociados al dispositivo médico de diagnóstico *in vitro*:

1. Un procedimiento debe ser validado cuando un sistema analítico se aplica a una nueva matriz no incluida en la validación del fabricante. La validación incluye la determinación de los parámetros metrológicos que apliquen de acuerdo a las necesidades de la validación, estas pueden ser:
 - a) Sensibilidad
 - b) Especificidad
 - c) Valor Predictivo Positivo (VPP)
 - d) Valor Predictivo Negativo (VPN)
 - e) Precisión
 - f) Límite de detección
2. Seleccionar para el estudio un kit comercial, que cuente con antecedentes de uso autorizado por una autoridad reguladora de alta vigilancia sanitaria en dispositivos médicos, como son algunas de las agencias que forman parte del Foro Internacional de Reguladores de Dispositivos Médicos (IMDRF, por sus siglas en inglés), tales como la FDA de Estados Unidos, TGA de Australia, HSA de Singapur, ANVISA de Brasil, HEALTH CANADA de Canadá, PMDA de Japón y MFDS de Corea del

Sur, y así realizar un mayor análisis regulatorio y que su protocolo cuente con la sensibilidad y especificidad reportada por el fabricante, al igual que el tamaño de muestra usado para estimar aquellos índices donde se detalla el total de muestras positivas y negativas identificados por el método de referencia y kit comercial, con el objetivo de poder comparar con la obtenida en el estudio de validación.

Mencionamos además que el ISP está trabajando en la validación analítica de la metodología para determinar la presencia de SARS-CoV-2 desde saliva. Los resultados obtenidos serán informados oportunamente.

La literatura internacional reciente sugiere que la carga viral de SARS-CoV-2 en saliva es mayor que la carga viral detectada en hisopado nasofaríngeo, sin embargo, su manejo es más complicado que la del HNF, ya que puede presentar trazar de sangre y mucosidad (8, 9, 24). Por otra parte también hay literatura que indica que la carga viral de las muestras de saliva es menor que las del HNF (25-27).

Diversas instituciones a nivel internacional, se encuentran trabajando para el desarrollo de diferentes kits de diagnóstico contra el SARS-CoV-2, y entre estas, destacan por su trabajo y metodología utilizada los protocolos desarrollados por la Universidad de Yale y la Universidad de Utah. Estos protocolos, consisten principalmente en la recolección de saliva y extracción automatizada de ácidos nucleicos de esta, desde los pacientes enfermos o sospechosos de COVID-19 que son posteriormente analizadas por PCR en tiempo real. Estos estudios comparan sus resultados con el *Gold standard*, siendo los resultados de sus comparaciones bastante cercanos entre sí. Ambos estudios presentan tamaños muestrales adecuados para las conclusiones obtenidas (8, 10), por lo que podrían ser un modelo adecuado a seguir. Sin embargo, en el estudio de Yale, a pesar de demostrar que las muestras inválidas son poco frecuentes, este estudio acusa un sesgo dirigido hacia hombres adultos y reporta que las técnicas de recolección de saliva para niños y adolescentes en particular, necesita ser refinada. La saliva no es una prueba rápida en el lugar de atención y requiere un laboratorio de alta complejidad. Además esta metodología requiere electricidad e instrumentos especializados como un RTqPCR, que pueden ser un factor limitante cuando dicho equipo no está disponible, especialmente en países de ingresos bajos y medios (24).

II. ANTECEDENTES EN CHILE

En Chile, se han elaborado una serie de estudios preliminares, descritos por los autores como “estudios piloto”, por laboratorios de diferentes universidades, como son: Universidad Austral de Chile (UACH), Universidad de Atacama, Universidad del

Desarrollo (UDD) y Pontificia Universidad Católica de Chile (PUC); y el Laboratorio E.L.S.A, Integramédica Bupa, para determinar la factibilidad de utilizar muestra de saliva en la detección de SARS-CoV-2. Si bien la muestra de saliva no viene a reemplazar el Hisopado Nasofaríngeo (HNF), de acuerdo a los resultados obtenidos, se considera una muestra alternativa y con importantes ventajas, para ser utilizada en las siguientes circunstancias:

- a) Búsqueda Activa de Casos en la Comunidad (BACC), en atención primaria, en quienes tienen contraindicación de muestra por HNF.
- b) BACC en establecimientos educacionales, recintos deportivos, áreas laborales, entre otros.
- c) Vigilancia epidemiológica.

Análisis de los estudios realizados en Chile:

Se han analizado los estudios de Integramédica Bupa, PUC, UACH y UDD. Se observa una cantidad de muestras adecuada para los análisis estadísticos propuestos por Integramédica Bupa, con una sensibilidad (72,7%) confiable dado la cantidad total de muestras positivas detectadas por HNF (n=88) y conjuntamente detectadas positivas por saliva (n=64), sin embargo, el porcentaje de sensibilidad es demasiado bajo (72,7%) como para considerarlo como un estudio de referencia (ver Tabla 1). Por otro lado, los estudios de la PUC, UACH y UDD presentan un porcentaje de sensibilidad bastante alto en sus últimas fases (91%, 90% y 92%, respectivamente) pero considerando pocas muestras positivas detectadas por HNF (n=11, n=20 y n=13, respectivamente), lo cual tampoco es recomendable como estudio de referencia.

De acuerdo a lo anterior, para el caso de los estudios de PUC, UACH y UDD, falta considerar más muestras positivas conjuntamente detectados por HNF y saliva, con la metodología aplicada, para considerar aquellos estudios como referencia para un protocolo. Con respecto al estudio realizado por Bupa, no existe mayor inconveniente con la cantidad de muestras analizadas, sin embargo, el porcentaje de sensibilidad observada es bastante inferior a lo reportado por estudios internacionales (protocolos de Universidad de Yale y Universidad de Utah), como para que se considere como referencia de procedimiento para un protocolo.

Respecto al estudio de la Universidad de Atacama, el número de muestras analizadas y reportadas son escasas (n=8) como para ser considerado como una referencia aplicable.

Tabla 1: Resultados obtenidos de estudios pilotos utilizando test RT-PCR para la detección de SARS-CoV-2 mediante saliva.

Laboratorio	Kit utilizado	Nº muestras positivas (HNF)	Nº muestras negativas (HNF)	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
Bupa	SARS-CoV-2/SARS-CoV Multiplex REAL-TIME PCR Detection Kit	88	708	72,7% (64/88)	97,5% (690/708)
Pontificia Universidad Católica de Chile	LightMix@SARS CoV 2 plus EAV Control	44	675	68,2% (30/44)	100% (675/675)
Universidad Austral de Chile	TaqMan® Fast Virus 1-step Master Mix	20	22	90% (18/20)	100% (22/22)
Universidad de Atacama	kit TaqMan™2019-nCoV Assay	2	6	100% (2/2)	100% (6/6)
Universidad del Desarrollo	Kit TaqMan 2019-nCoV Assay Kit v1	48	262	72,9% (35/48)	100% (262/262)

Elaborado por: Agencia Nacional de Dispositivos Médicos, Innovación y Desarrollo (ANDID), Instituto de Salud Pública de Chile.

Conclusión:

1. Los “estudios pilotos” deben continuar reportando sus resultados al ISP, con el objetivo de evaluar la factibilidad de ser considerados como protocolos de referencia.
2. En consideración de los antecedentes expuestos, el ISP ha determinado tomar como **referencia** para la elaboración del protocolo a aplicar en Chile, los protocolos de toma de muestras de saliva para detectar SARS-CoV-2 por técnica de PCR en tiempo real, realizados por la Universidad de Yale y Universidad de Utah, dado que cuentan con la cantidad de muestras positivas mínima requeridas por la FDA y el CLSI y, además, presentan un porcentaje de sensibilidad del 94,1% y 93,8%, respectivamente.

III. RECOLECCIÓN DE MUESTRA DE SALIVA (RT-qPCR COVID-19)

Instrucciones para el paciente:

1. 30 minutos antes de la toma de muestra:
 - a) No ingiera alimentos ni líquidos, excepto agua.
 - b) No debe masticar chicle, fumar o utilizar algún tipo de spray bucal antes de la toma de muestra.
 - c) No debe lavarse los dientes, ni utilizar enjuagues bucales o hilo dental antes de la toma de muestra.
 - d) Remover productos cosméticos, bálsamos o cremas labiales, tampoco toque los labios con sus manos antes de la toma de muestra.

Toma de muestra:

1. Lavarse las manos, según Protocolo MINSAL.
2. Retírese la mascarilla y empiece a acumular saliva en el interior de su boca. Como ayuda, masajee sus mejillas de forma suave y circular, para estimular la producción de saliva.
3. Sujete el tubo en posición vertical y abra la tapa con su otra mano. Se requiere tubos libre de nucleasas, graduados y con capacidad de 5 ml hacia arriba.
4. Acerque el tubo a su boca y cuidadosamente deposite dentro del tubo la saliva acumulada en su boca, evitando la formación de burbujas y derrames fuera del frasco.
5. Llene el tubo con saliva hasta la línea de llenado. Mínimo 2 ml de muestra de saliva.
6. Al completar la cantidad necesaria de muestra, tape el tubo enroscando la tapa firmemente para evitar derrames.
7. Lávese las manos nuevamente.
8. Colóquese la mascarilla.
9. Entregue la muestra al profesional de salud correspondiente.

Instrucciones para quien supervisa:

1. Rotule el tubo tomando las precauciones de identidad de la persona a la cual se le toma la muestra.
2. Coloque el tubo al interior de la bolsa de plástico hermética y ciérrela.

Conservación y transporte de las muestras:

1. El uso del medio de transporte es optativo. En caso de utilizar medio de transporte este debe contener estabilizador de RNA e inhibidor de RNAsas, con una dilución máxima de 1:1.
2. Las muestras recolectadas pueden ser almacenadas a temperatura de 2°C-8°C, hasta su análisis dentro de un periodo máximo de 5 días (se recomienda hacer el análisis lo antes posible).
3. El transporte de las muestras debe realizarse de acuerdo al sistema de triple embalaje según “Normativa Técnica para el transporte de Sustancias Infecciosas a Nivel Nacional”, utilizando unidades refrigerantes para mantención de la temperatura.

IV. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

La detección del SARS-CoV-2 en muestras de saliva va a depender de varios factores como: la calidad de recolección de la muestra, el oportuno envío de la muestra al laboratorio para su diagnóstico, almacenamiento, identificación y adecuado procesamiento.

1. Por su alta consistencia y viscosidad, previo a la extracción se recomienda agitar la muestra de saliva, en un vortex de forma vigorosa durante 5 – 10 segundos.
2. En un gabinete de seguridad tipo II, agregue el volumen de muestra respectivo en un tubo cónico libre de nucleasas y realice el proceso de extracción automatizado de RNA, de acuerdo a las especificaciones técnicas dadas por el fabricante.
3. Una vez purificado el RNA de la muestra, se debe continuar con el procedimiento indicado por fabricante, según el kit de detección de SARS-CoV-2 que utilice en su laboratorio.

En caso que un laboratorio desee implementar la metodología validada, se sugiere verificar la metodología de detección de SARS-CoV-2 en muestras de saliva, se les indica que para la verificación analítica no es necesario la realización de un estudio doble ciego aleatorizado en la población. Para ello se debe tener en consideración lo siguiente:

Plan de muestreo:

Existen diferentes fases en un plan de muestreo.

Fase I:

Corresponde a una fase exploratoria donde el objetivo es obtener una primera aproximación de la capacidad diagnóstica de una nueva tecnología.

Fase II:

Corresponde a una fase de “desafío”, que corresponde a la determinación de la existencia en las diferencias de la precisión del test para diferentes subpoblaciones de pacientes.

Fase III:

Corresponde a un estudio de campo (prospectivo), en el cual se toman un tamaño de muestras representativas de la población objetivo, tomando en consideración la prevalencia de la enfermedad en cuestión (22).

Para la verificación de una metodología (de saliva en este caso), se utilizará un plan de muestreo correspondiente a la Fase I para evaluar la precisión del diagnóstico de un test. En este caso, se propone comparar casos confirmados positivos con casos control (22).

La fase exploratoria de este protocolo corresponde a un plan de muestreo retrospectivo para cada paciente, lo que significa que la verdadera condición del paciente es conocida cuando es seleccionado para el estudio (22).

Si se requiere considerar un plan de muestreo para Fase II o III, se debe tener en consideración el diseño de otra metodología.

Por lo tanto, el departamento ANDID, recomienda los criterios anteriores para la verificación de la metodología, evaluando su desempeño, en función de un plan de muestreo en Fase I.

Cálculo de tamaño muestral:

Considerando que la sensibilidad (Se) o especificidad (Sp) de un test de diagnóstico es una proporción, se utilizó la siguiente fórmula para determinar el tamaño de muestra (21, 22):

$$n = \frac{z_{\alpha/2}^2 * P * (1 - P)}{d^2} \quad (\text{Ecuación 1})$$

donde:

Z: es el percentil de la función de distribución de la Gaussiana (Normal (0,1)).

α : es la probabilidad que el intervalo de confianza no contenga al parámetro.

P: es la proporción (en este caso la sensibilidad (Se) o especificidad (Sp) predeterminada)

d: es el error máximo admisible, valor que corresponde a un error de tolerancia para la estimación del parámetro.

Se ha establecido que:

1. La cantidad total de muestras positivas y negativas detectadas por el Gold standard debe determinarse mediante la Ecuación 1.
2. Existen casos donde la sensibilidad y/o especificidad reportada por el fabricante puede ser de un 100%. En estos casos, el resultado de la Ecuación 1 será igual a 0. Dado la posibilidad de que esto puede ocurrir, se incluye un criterio para la cantidad mínima de muestras que deben evaluarse. Se consideró la sugerencia del “User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline” del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) para establecer un tamaño mínimo de muestras positivas detectadas conjuntamente por el método de referencia y el test candidato ($n=50$ verdaderos positivos*), y un tamaño mínimo de muestras negativas detectadas por el método de referencia ($n=50$ muestras negativas detectadas por Gold standard) (7).
3. En caso que la cantidad de muestras positivas y/o negativas estimadas mediante la Ecuación 1 (utilizando la sensibilidad y especificidad indicada en el instructivo del fabricante) es inferior a 50, se debe verificar que la cantidad de muestras indicada en el instructivo del fabricante cumpla con la sugerencia mínima establecida por el CLSI (50 VP y 50 negativas por Gold standard). Si cumple, se considerará la muestra establecida por la Ecuación 1. Si no cumple, entonces se considerará un tamaño de muestra según lo establecido por CLSI. Esto también aplica en caso que el instructivo del fabricante no reporte la cantidad de muestras sobre lo cual basó la estimación de sensibilidad y especificidad.

Se utilizará la fórmula de tamaño muestral para la estimación de una proporción con una confianza del 95% y un error máximo admisible correspondiente a un 5%, para aquellos kits de detección SARS-CoV-2 que se encuentran reportados en los sitios web oficiales de autoridades reguladoras de alta vigilancia sanitaria en dispositivos médicos, como son algunas de las agencias que forman parte del Foro Internacional de Reguladores de Dispositivos Médicos (IMDRF, por sus siglas en inglés), como la FDA de Estados Unidos, TGA de Australia, HSA de Singapur, ANVISA de Brasil, HEALTH CANADA de Canadá, PMDA de Japón y MFDS de Corea del Sur, información publicada por ISP en su página web actualizada al 26 de abril de 2020. Cabe señalar que la aprobación otorgada por las



autoridades reguladoras corresponde a una autorización de uso de emergencia de estos test (23).

Los laboratorios que deseen realizar el proceso de verificación de la metodología, lo pueden realizar de manera escalada, hasta cumplir con el número de determinaciones indicadas por la ecuación 1 para la determinación del tamaño muestral, o en su defecto los valores sugeridos por el CLSI (50 VP y 50 N). Una vez cumplido el tamaño muestral requerido se debe enviar el informe final.

*verdaderos positivos: muestras detectadas positivas simultáneamente por método “*gold standard*” y candidato.

V. BIBLIOGRAFÍA

- (1) Terje Aven & Frederic Boudier (2020): The COVID-19 pandemic: how can risk science help?. *Journal of Risk Research*, DOI: 10.1080/13669877.2020.1756383. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/13669877.2020.1756383>
- (2) In Vitro Diagnostics EUAs. Disponible en: <https://www.fda.gov/medical-devices/coronavirus-disease-2019-covid-19-emergency-use-authorizations-medical-devices/vitro-diagnostics-euas> [Acceso el 28 de octubre del 2020].
- (3) SalivaDirect™. Disponible en: <https://publichealth.yale.edu/salivadirect/> [Acceso el 28 de octubre del 2020].
- (4) Accelerated Emergency Use Authorization (EUA) Summary SARS-CoV-2 RT-PCR Assay. Disponible en: https://publichealth.yale.edu/salivadirect/3-EUA202097.S003_EUA%20summary_FINAL_397684_5_v1.pdf [Acceso el 28 de octubre del 2020].
- (5) Organización Panamericana de la Salud. Directrices de laboratorio para la detección y el diagnóstico de la infección por el virus responsable de la COVID-19. 8 de julio del 2020. Disponible en: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/52471>
- (6) Organización Mundial de la Salud. Diagnostic testing for SARS-CoV-2. 11 de septiembre de 2020. Disponible en: <https://www.who.int/publications/i/item/diagnostic-testing-for-sars-cov-2>. [Acceso el 15 de octubre del 2020].
- (7) EPI2-A2. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline. Clinical and Laboratory Standards Institute. Vol. 28, No. 3.
- (8) Wyllie AL, Fournier J, Casanovas-Massana A, Campbell M, Tokuyama M, Vijayakumar P et al. (2020) Saliva is more sensitive for SARS-CoV-2 detection in COVID-19 patients than nasopharyngeal swabs. *medRxiv*, Apr 22, doi.org/10.1101/2020.04.16.20067835.
- (9) Williams E, Bond K, Zhang B, Putland M, Williamson DA (2020) Saliva as a noninvasive specimen for detection of SARS-CoV-2. *J Clin Microbiol*, Apr 21, doi: 10.1128/JCM.00776-20.
- (10) Hanson KE, Barker AP, Hillyard DR, Gilmore N, Barrett JW, Orlandi RR, and Shakir SM. Self-Collected Anterior Nasal and Saliva Specimens versus Healthcare Worker-Collected Nasopharyngeal Swabs for the Molecular Detection of SARS-CoV-2. August 2020, *J. Clin. Microbiol.* doi:10.1128/JCM.01824-20

- (11) Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos. Disponible en: https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/coronavirus-covid-19-update-fda-revokes-emergency-use-authorization-chembio-antibody-test?utm_campaign=2020-0616%20FDA%20Revokes%20Emergency%20Use%20Authorization%20%28EU%29%20for%20Chembio%20Antibody%20Test&utm_medium=email&utm_source=Eloqua [Acceso el 03 de octubre del 2020].
- (12) Organización Panamericana de la Salud. Principios relativos a la utilización de decisiones de otras autoridades regulatorias: nota conceptual y recomendaciones. IX Conferencia de la Red Panamericana para la Armonización de la Reglamentación Farmacéutica (Red PARF). San Salvador, del 24 al 26 de octubre del 2018. Washington, D.C.: OPS; 2019. Disponible en: https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/51550/OPSHSS1903_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
- (13) Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). FDA; 2020 Disponible en: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/policy-coronavirus-disease-2019-tests-during-public-health-emergency-revised> [Acceso el 04 de octubre del 2020].
- (14) Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos OPEN FDA. Disponible en: https://open.fda.gov/apis/device/covid19serology/?utm_campaign=Certain+COVID-19+Serology%2FAB+Test+Should+Not+Be+Used&utm_medium=email&utm_source=Eloqua&fbclid=IwAR1o28RAqTWRdG6nu0XcOxhpCEvSL3rnYAZoLo4Mwn2_2-ycdjAsBAIUZFs [Acceso el 03 de octubre del 2020].
- (15) INCQS - Instituto Nacional de Control de Calidad en Salud de la Fiocruz - Fundación Oswaldo Cruz. Disponible en: <https://app.powerbi.com/view?r=eyJrIjoiZjZjZmMDE0NGUtN2M4Yi00NTZiLTliN2MtMzA2YTZkMjcyNDRhIiwidCI6ImI2N2FmMjNmLWZjZjMtNGQzNS04MG-M3LWI3MDg1ZjVIZGQ4MSJ9>
- (16) The Doherty Institute. Disponible en: <https://www.health.gov.au/resources/collections/post-market-validation-of-serological-point-of-care-tests-for-covid-19>
- (17) Vaz, S. N., Santana, D. S., Netto, E. M., Pedroso, C., Wang, W. K., Santos, F., & Brites, C. (2020). Saliva is a reliable, non-invasive specimen for SARS-CoV-2 detection. The Brazilian journal of infectious diseases: an official publication of

- the Brazilian Society of Infectious Diseases, S1413-8670(20)30115-X. Advance online publication. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2020.08.001>
- (18) Center for Disease Control and Prevention. [Internet] Disponible en: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/lab/guidelines-clinical-specimens.html#collecting>
- (19) Anne L. Wyllie et al., (2020). Saliva is more sensitive for SARS-CoV-2 detection in COVID-19 patients than nasopharyngeal swabs. <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.04.16.20067835v1.full.pdf>
- (20) Isabel M Ott et al., (2020). Saliva Collection and RNA Extraction for SARS-CoV-2 Detection V.2 <https://www.protocols.io/view/saliva-collection-and-rna-extraction-for-sars-cov-bg3pjymn/materials>
- (21) Banoo S, Bell D, Bossuyt P, Herring A, Mabey D, Poole F, et al. TDR Diagnostics Evaluation Expert Panel: Evaluation of diagnostic tests for infectious diseases: general principles. *Nat Rev Microbiol* [Internet]. 2010;8(12 Suppl):S17-29. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21548184>
- (22) Zhou X, McClish DK, Obuchowski NA. *Statistical methods in diagnostic medicine*. 2nd ed. Hoboken, N.J: Wiley; 2011. 545 p. (Wiley series in probability and statistics).
- (23) http://www.ispch.cl/sites/default/files/Lista%20Test%20Ra%CC%81pidos%20Covid%20al%2026_04_2020.pdf
- (24) B.F. Vogels, Anne E. Watkins, Christina A. Harden, Doug Brackney, Jared Shafer, Jianhui Wang, Cesar Caraballo, Chaney C Kalinich, Isabel Ott, Joseph R. Fauver, Eriko Kudo, Peiwen Lu, Arvind Venkataraman, Maria Tokuyama, Adam J Moore, M. Catherine Muenker, Arnau Casanovas-Massana, John Fournier, Santos Bermejo, Melissa Campbell, Rupak Datta, Allison Nelson, Charles Dela Cruz, Albert Ko, Akiko Iwasaki, Harlan M. Krumholz, JD Matheus, Pei Hui, Chen Liu, Shelli Farhadian, Robby Sikka, Anne L Wyllie, Nathan Grubaugh. SalivaDirect: A simplified and flexible platform to enhance SARS-CoV-2 testing capacity. *medRxiv*, September 28, 2020. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.08.03.20167791>
- (25) Becker D., Sandoval E., Amin A., De Hoff P., Diets A., Leonetti N., Lim YW., Elliott C., Laurent L., Grzymiski J., , Lu JT. Saliva is less sensitive than nasopharyngeal swabs for COVID-19 detection in the community setting. *medRxiv preprint*; May 17, 2020. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.05.11.20092338>
- (26) Williams E, Bond K, Zhang B, Putland M, Williamson DA. 2020. Saliva as a noninvasive specimen for detection of SARS-CoV-2. *J Clin. Microbiol* 58:e00776-20. <https://doi.org/10.1128/JCM.00776-20>.



- (27) Citation Procop GW, Shrestha NK, Vogel S, Van; Sickle K, Harrington S, Rhoads DD, Rubin BP; Terpeluk P. 2020. A direct comparison of enhanced saliva to nasopharyngeal swab for the detection of SARS-CoV-2 in symptomatic patients. *J Clin Microbiol* 58:e01946-20. <https://doi.org/10.1128/JCM.01946-20>.