

Original

Javier Pardo Lledias¹
Laura Ayarza²
Pablo González-García²
Zaida Salmón González²
Jorge Calvo Montes³
Mónica Gozalo Marguello³
José Luis Hernández
Hernández¹
José Manuel Olmos
Martínez¹

Repetición de las pruebas microbiológicas en la sospecha de la infección por SARS-CoV-2: utilidad de un score basado en la probabilidad clínica

¹Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla-IDIVAL. Universidad de Cantabria. Santander. Cantabria.

²Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander. Cantabria.

³Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla-IDIVAL. Santander. Cantabria.

Article history

Received: 23 July 2020; Revision Requested: 19 August 2020; Revision Received: 20 August 2020; Accepted: 23 August 2020; Published: 11 September 2020

RESUMEN

Introducción. El diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2 presenta limitaciones. La RT-PCR en frotis nasofaríngeo es la prueba considerada como el patrón oro, aunque puede ofrecer falsos negativos. El objetivo de este trabajo ha sido evaluar la utilidad de repetir el frotis nasofaríngeo en pacientes con resultado negativo en función de las diferentes probabilidades clínicas.

Métodos. Estudio observacional retrospectivo de los primeros pacientes ingresados en el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla en dos plantas COVID de Medicina Interna durante marzo-abril del 2020. La RT-PCR para la detección de al menos dos dianas de los principales genes (E, N, RdRP, ORF1) y el test de detección de anticuerpos para la detección de al menos IgG.

Resultados. Se analizaron 145 pacientes hospitalizados; 98 (67,5%) con el diagnóstico de SARS-CoV-2. Las variables predictivas independientes de SARS-CoV-2 fueron: contacto epidemiológico con otro paciente COVID-19, presentación clínica como neumonía, ausencia de neumonía en el año previo, inicio de síntomas >7 días al ingreso, ≥ 2 síntomas -tos, disnea y fiebre- y lactato deshidrogenasa >350 U/L ($p < 0,05$). Un score basado en estas variables presentó un área bajo la curva ROC (ABC ROC) de 0,89 (IC95 0,831-0,946; $p < 0,001$). El rendimiento de la RT-PCR en su primera determinación fue del 54,9%. La repetición de la prueba permitió detectar un 16% de casos adicionales. El rendimiento global de sucesivas RT-PCR en pacientes con baja probabilidad clínica fue inferior al 5%.

Conclusión. Hemos definido un score de probabilidad pre-prueba basado en datos epidemiológicos y clínicos con

una buena precisión para el diagnóstico por infección SARS-CoV-2. La repetición del frotis nasofaríngeo puede evitar errores de muestreo sólo en escenarios de intermedia-alta probabilidad clínica pre-prueba.

Palabras clave: SARS-CoV-2, COVID-19; probabilidad clínica, RT-PCR, anticuerpos, inmunoensayo

Repetition of microbiological tests in suspect of SARS-CoV-2 infection: utility of a score based on clinical probability

ABSTRACT

Background. The diagnosis of SARS-CoV-2 infection presents some limitations. RT-PCR in nasopharyngeal swabs is considered the gold standard for the diagnosis, although it can have false negative results. We aimed to analyze the accuracy of repeating nasopharyngeal swabs based on different clinical probabilities.

Methods. Retrospective observational study of the first patients admitted to a two COVID Internal Medicine wards at the University Hospital Marqués de Valdecilla, Santander, from March to April 2020. RT-PCR targeting E, N, RdRP and ORF1 genes and antibody tests detecting IgG.

Results. A total of 145 hospitalized patients with suspected SARS-Cov2 infection were admitted and in 98 (67.5%) diagnosis was confirmed. The independent predictive variables for SARS-CoV-2 infection were: epidemiological contact, clinical presentation as pneumonia, absence of pneumonia in the last year, onset of symptoms > 7 days, two or more of the following symptoms -dyspnea, cough or fever- and serum lactate dehydrogenase levels >350 U/L ($p < 0.05$). A score based on these variables yielded an AUC-ROC of 0.89 (CI95%, 0.831-0.946; $p < 0.001$). The accuracy of the first nasopharyngeal swabs was 54.9%. Repeating nasopharyngeal swabs two or three times allows to detect an additional 16% of positive cases. The overall accuracy of successive RT-PCR tests in patients with low pre-test probability was <5%.

Correspondencia:
Javier Pardo Lledias.
Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla-IDIVAL.
Santander. Cantabria.
C/ Avenida Valdecilla 25; 39008. Santander Cantabria
E-mail. Javier.pardo@scsalud.es

Conclusions. We have defined a pre-test probability score based on epidemiological and clinical data with a high accuracy for diagnosis of SARS-CoV-2. Repeating nasopharyngeal swabs avoids sampling errors, but only in medium of high probability pre-test clinical scenarios.

Palabras clave: SARS-CoV2, COVID-19; clinical probability, RT-PCR, antibióticos; immunoassay.

INTRODUCCIÓN

El diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2 en una situación de brote pandémico presenta ciertas limitaciones. En primer lugar, las manifestaciones clínicas cardinales de esta infección son también muy frecuentes en otros procesos respiratorios de etiología infecciosa. En segundo lugar, los hallazgos radiológicos pulmonares tanto en la radiología convencional como incluso en la tomografía computadorizada, inicialmente definidos como característicos de esta virosis, pueden plantear también otras alternativas diagnósticas. El empleo de pruebas microbiológicas precisas representa la piedra angular en el diagnóstico y manejo de la infección por SARS-CoV-2, así como en la toma de medidas de salud pública en la población general.

La detección de ácidos nucleicos mediante la prueba de la transcriptasa inversa de la reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) en el frotis nasofaríngeo, se ha demostrado altamente rentable durante los 5 primeros días de la infección, aunque su sensibilidad puede reducirse al 30-40% a partir de ese periodo de tiempo [1]. El entrenamiento adecuado de equipos de personal especializado en la recogida de muestras y la repetición del frotis faríngeo [2] puede disminuir los falsos negativos derivados de los errores de muestreo. El procesamiento de otras muestras biológicas de las vías áreas bajas (esputo, lavado bronco-alveolar) aumenta el rendimiento diagnóstico por prueba realizada en la infección por SARS-CoV-2, a partir de la segunda semana del inicio de los síntomas [1,3]. Sin embargo, es conocido que la producción espontánea de esputo es escasa en las neumonías de origen viral, como la inducida por este coronavirus, y la aplicación de aerosoles micronizados para la inducción de esputo o el propio lavado bronco-alveolar implican un alto riesgo de diseminación nosocomial del virus.

Los métodos de diagnóstico basados en pruebas inmunocromatográficas constituyen métodos rápidos de detección de anticuerpos (Ac) frente a proteínas específicas del SARS-CoV-2 y se han mostrado altamente sensibles para el diagnóstico sólo a partir de los 7-14 días del comienzo de la clínica, con elevación frecuentemente y forma inicial de la IgM y después de la IgG [4].

Estas limitaciones en el diagnóstico pueden ser más importantes al finalizar el estado de alarma y el confinamiento de la población, momento a partir del cual la incidencia de nuevos casos de infección por SARS-CoV-2 será más atenuada y las probabilidades pre-prueba disminuirán. En este contexto, el diseño de algoritmos diagnósticos puede permitirnos optimizar los recursos materiales y humanos en los laboratorios de microbiología y en las plantas de hospitalización.

El objetivo del presente trabajo ha sido evaluar las características epidemiológicas y clínicas de los pacientes hospitalizados por infección por SARS-CoV-2 durante el brote epidémico, definiendo un *score* con diferentes probabilidades clínicas y analizar la utilidad de la repetición de los frotis nasofaríngeos en función de éstas.

PACIENTES Y MÉTODOS

Se seleccionaron los pacientes ingresados por sospecha de infección por SARS-CoV-2 en el área COVID de las plantas de Medicina Interna del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla de Santander, desde el 24 de marzo al 14 de abril de 2020. Este centro es un hospital terciario que da cobertura a una población de unos 350.000 habitantes.

Se recogieron datos epidemiológicos y clínicos y se almacenaron en una base de datos informatizada. Para el diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2 se realizó la obtención de un exudado nasofaríngeo obtenido mediante una toma nasal profunda introduciendo el exudado en un medio de transporte universal para virus, siendo trasladada la muestra de inmediato al laboratorio de microbiología donde se realizó una RT-PCR para la detección de al menos dos dianas de los principales genes (E,N, RdRP, ORF4b) mediante los kits VIASURE SARS-Cov" Real Time PCR detection Kit (CertTest Biotec, Zaragoza, Spain) y LightMix Modular SARS-COV2 (Roche Diagnostics, Germany) [3]. Las pruebas inmunocromatográficas para la detección de anticuerpos IgG e IgM se realizaron según protocolo estandarizado (Hangzhou Alltest Biotech Co. Hangzhou. China).

El análisis de los datos se llevó a cabo mediante el paquete estadístico SPSS v21. Las variables categóricas se expresaron como números y porcentajes y las continuas como media y desviación estándar. Para las comparaciones entre las variables categóricas se utilizó la prueba de chi cuadrado y el test de Fisher según fuese apropiado. Se evaluó la asociación mediante la odds ratio (OR) con su intervalo de confianza al 95% (OR IC95). Se calculó el área bajo la curva (ABC) de cada una de las variables continuas con su IC95%. Para evaluar las variables independientes asociadas con infección por el SARS-CoV-2 se llevó a cabo un análisis de regresión múltiple multivariable introduciendo en el modelo aquellas que mostraron asociación en el análisis univariable. Se definió un *score* de riesgo clínico basado en las variables predictivas independientes de infección SARS-CoV2 en función de los odds ratio resultantes. El rendimiento del primer frotis faríngeo procesado con RT-PCR se calculó con la ratio entre el número de pruebas positivas y realizadas. La realización de sucesivos frotis (segundo y tercero) sólo se consideró en aquellos casos en los que los frotis faríngeos previos hubieran sido negativos.

RESULTADOS

Desde el 24 de marzo hasta el 12 de abril de 2020 ingresaron 145 pacientes con sospecha clínica de SARS-CoV-2, en dos de las plantas (área COVID) del Servicio de Medicina Interna.

Las características basales de los pacientes se muestran en la Tabla 1. Los pacientes tenían una media de edad de 66,9±18,6 años y eran varones el 59,9%. El índice de comorbilidad de Charlson fue de 1,3±1,6. Veinte pacientes (13,8%) relataban haber tenido un contacto reciente con algún sujeto diagnosticado de infección por SARS-CoV-2 confirmada mediante RT-PCR. Los pacientes ingresados habían comenzado con clínica 7,1+/-5,6 días antes del ingreso. Un 78,6% (114) presentaba infiltrado radiológico compatible con neumonía en el momento del ingreso.

El diagnóstico microbiológico se estableció en 98 (67,5%) del total de pacientes con sospecha inicial de infección por SARS-CoV-2. En 95 de ellos (97%) el diagnóstico fue directo por RT-PCR y en 3 (3,0 %) casos se realizó mediante la prueba rápida de detección de anticuerpos (TDR). Los pacientes en los que se pudo confirmar el diagnóstico microbiológico de infección por coronavirus, presentaban características distintas al de los pacientes en los que no se pudo confirmar este diagnóstico. Las variables asociadas a un diagnóstico microbiológico positivo de infección por SARS-CoV-2 se muestran en la Tabla 2. Los diagnósticos más frecuentes en los pacientes que no presentaban SARS-CoV-2 fueron: infección respiratoria definida (n=23; 48%) incluyendo -infección por: metapneumovirus, influenza A, tuberculosis, neumococo y otras-, broncoaspiración (n=3; 6,6%), fiebre de origen no respiratorio (n=3; 6,6%) -artritis gotosa, infección urinaria y gastroenteritis-, insuficiencia cardíaca (n=7; 15,5%) y otras.

Se evaluó la rentabilidad de tres biomarcadores séricos considerados como característicos de infección por SARS-CoV-2: cifra total de linfocitos/mm³, lactato deshidrogenasa -LDH- (U/l) y D-dímero (ng/mL). Se estimaron las curvas ROC y sus ABC para el diagnóstico final microbiológico, observándose que ni la cifra de linfocitos totales ni la elevación de D-dímero tenían utilidad como marcador de infección por coronavirus. Sólo el nivel sérico de LDH resultó ser un marcador débil de infección por SARS-CoV-2 con un ABC de 0,654 (IC95%, 0,53-0,72; p=0,014).

En el análisis de regresión multivariable sólo el contacto epidemiológico de riesgo, la existencia de infiltrado pulmonar en la radiografía de tórax, el comienzo de los síntomas >7 días, la presencia de al menos dos síntomas (tos, fiebre y/o disnea), y la ausencia de neumonía en el año previo fueron variables predictivas independientes de infección por SARS-CoV-2 (p<0,05). Se evaluó un score de riesgo de 8 puntos basándose en los factores predictores independientes y un nivel de LDH >350 (correspondiente al percentil 75) (Tabla 3). El ABC-ROC para este modelo predictivo fue de 0,89 (IC95, 0,831-0,946; p<0,001)

En todos los pacientes se realizó como técnica diagnóstica al menos un frotis faríngeo analizado con RT-PCR. En 65 pacientes (44,8%) se hizo un segundo frotis diagnóstico y en 26 (17,9%) casos se realizaron tres o más frotis diagnósticos por negatividad persistente en los previos. El diagnóstico microbiológico final se realizó en tres casos 3(3,0%) por la detección de IgG en la prueba de diagnóstico de anticuerpos.

Tabla 1

Principales variables demográficas, clínicas y de laboratorio de nuestra serie.

Variable	
Edad (años), media (DE)	66,9 (17,8)
Sexo (varón), n (%)	86 (59,9)
Procedencia de centro sociosanitario, n (%)	16 (11,3)
Contacto epidemiológico +, n (%)	20 (13,8)
Índice de Charlson, media (DE)	1,9 (1,63)
Días desde el inicio de síntomas, media (DE)	7,1(5,6)
Tos, fiebre o disnea (≥2), n (%)	101(61,6)
Neumonía en el año previo, n (%)	11 (7,6)
Infiltrado pulmonar radiológico, n (%)	114 (78,6)
Linfocitos (cél/s/ml), media (DE)	1.186 (760)
Lactato deshidrogenasa (U/L), media (DE)	292,1 (128,0)
D-dímero (ng/mL), media (DE)	2.709 (12.250)
Diagnostico final de SARS-CoV-2, n (%)	98 (67,5)

Tabla 2

Variables predictivas de infección por SARS-CoV-2 al ingreso (análisis bivariado).

Variable	OR (IC95)	P
Edad <65 años	3,1 (1,4-6,69)	0,002
Contacto epidemiológico	11,2 (1,4-86,4)	0,005 ^a
>7 días desde inicio síntomas	3,4 (1,4-8,1)	0,004 ^a
Ausencia de neumonía en año previo	3,9 (1,11-13,8)	<0,001 ^a
Tos, fiebre o disnea (>ó=2)	5,8 (2,6-12,6)	<0,001 ^a
Infiltrado pulmonar en radiodiagnóstico	27 (3,2-237)	<0,001 ^a
Índice de Charlson <2	4,9 (2,3-10,3)	<0,001
Lactato deshidrogenasa (LDH)>350 U/L	4,1 (1,35-12,66)	0,008
Linfocitos <1000/mm ³	2,1 (1,17-4,5)	0,037

^aVariables predictivas independientes de SARS-CoV-2.

La positividad de los resultados en relación al diagnóstico final y el rendimiento de las pruebas diagnósticas microbiológicas se expresa en la Tabla 4.

Se evaluó el rendimiento del frotis faríngeo en relación a la puntuación obtenida en el score propuesto. Para una probabilidad clínica baja (score 0-3) el rendimiento de la primera, segunda y tercera determinación de RT-PCR fue del 13,6%, del 5,7% y del 0% respectivamente. En el caso de una probabilidad intermedia (score 4-5) estas cifras fueron del 69,9%, del 28,0% y del 21,4%. Finalmente para una probabilidad alta (score 6-8) el rendimiento de la RT-PCR en las tres sucesivas muestras fue del 87,5%, del 60,0% y del 33,3% respectivamente.

DISCUSIÓN

En el presente trabajo, realizado al inicio del actual brote epidémico de infección por el SARS-CoV-2 en España, se evaluaron las características demográficas, epidemiológicas y clínicas de los pacientes ingresados por sospecha de esta infección. Los trabajos que han analizado los casos del brote inicial en China documentaron desde el principio el perfil clínico de los pacientes infectados por el SARS-CoV-2 que incluye sobre todo el desarrollo de neumonía con insuficiencia respiratoria y en algunos casos progresión a un síndrome de distrés respiratorio (SDR), con una mortalidad de los pacientes hospitalizados superior al 2% [5]. En el presente trabajo se compararon las características clínicas de los pacientes ingresados con un diagnóstico de confirmación de infección por SARS-CoV-2, con las de aquellos hospitalizados en los que no se obtuvo un diagnóstico de confirmación. Hemos observado diferencias significativas en relación con aspectos epidemiológicos y clínicos. Entre todos ellos, la existencia de contacto con otros casos positivos y la presentación con neumonía al ingreso fueron los factores más intensamente asociados con el diagnóstico final de infección por SARS-CoV-2. La menor edad, una baja carga de comorbilidad en el índice de Charlson o la ausencia de ingresos recientes por neumonía fueron, durante el brote epidémico, factores asociados con el diagnóstico final SARS-CoV-2. Estos datos epidemiológicos también fueron remarcados en el brote epidémico en Wuhan (China) en donde sólo el 15% de los pacientes ingresados tenían más de 65 años de edad y donde la comorbilidad fue relativamente baja salvo por la alta frecuencia de hipertensión [5]. Sin embargo, estos resultados en nuestro estudio pueden reflejar un cierto sesgo de selección dado que, al inicio de la pandemia, los pacientes ancianos ingresados en residencias fueron aislados en los propios centros socio-sanitarios e ingresaron con menor frecuencia en el hospital, como se señala en las características de la muestra estudiada en nuestro trabajo.

Otro hecho notable es que no hemos observado que las variables de laboratorio frecuentemente detectadas en la infección SARS-CoV-2, como la linfopenia o la elevación del D-dímero presentes en más del 40% de estos pacientes [5,6], tengan utilidad clínica como biomarcadores de esta infección.

Tabla 3 Variables consideradas en la evaluación del score de probabilidad pre-prueba.

Variables	Puntuación
Contacto epidemiológico con otro caso COVID	2
Infiltrado pulmonar en la radiografía de tórax	2
Presencia de dos o más síntomas (tos, fiebre o disnea)	1
Ausencia de neumonía en año previo	1
Inicio síntomas >7 días	1
Lactato deshidrogenasa (LDH) >350 U/L	1

Dado que estas determinaciones pueden presentar importantes variaciones durante el curso de la enfermedad y se han considerado, por ello, marcadores de gravedad de la infección por SARS-CoV-2, es posible que en otros momentos de la infección puedan constituir marcadores más precisos que los detectados al ingreso en nuestro trabajo. En relación al valor de la LDH, hemos objetivado que los niveles séricos >350 U/L podrían ser un marcador de utilidad en el diagnóstico de la infección SARS-CoV2.

Con estos datos hemos establecido un *score* de probabilidad pre-prueba, utilizando únicamente las variables predictivas independientes resultantes del modelo de regresión múltiple, incluyendo además la LDH. Se ha ponderado el contacto epidemiológico y la presencia de neumonía con 2 puntos en cada ítem, para un resultado máximo de 8 puntos. Así, detectamos que el *score* presentaba una alta precisión diagnóstica de infección por el SARS-CoV-2 (ABC cercana a 0,9) en los pacientes incluidos en nuestra serie. Aunque nos parece interesante considerar este *score* durante el brote epidémico, creemos que su utilidad puede ser incluso mayor en una segunda fase de la pandemia, en la que la probabilidad pre-prueba será inferior por el descenso esperable del número de casos. Finalmente, otro de nuestros objetivos fue evaluar la utilidad de la repetición del frotis nasofaríngeo en la reducción de los falsos negativos de la RT-PCR. Observamos globalmente un alto rendimiento de la primera determinación de RT-PCR. En la repetición del muestreo, el rendimiento se redujo en relación a los grupos de baja

Tabla 4 Rendimiento diagnóstico de la RT-PCR de la primera y sucesivas muestras analizadas en función de la diferente probabilidad pre-prueba.

	Rendimiento ^b score alta probabilidad n (%)	Rendimiento ^b score media probabilidad n (%)	Rendimiento ^b score baja probabilidad n (%)	Rendimiento ^b total n (%)	Diagnósticos ^c n (%)
Primer frotis NF (RT-PCR ^a)	21/24 (87,5)	51/73 (69,9)	6/44 (13,6)	79/145 (54,9)	79/98 (80,6)
Segundo frotis NF (RT-PCR ^a)	3/5 (60,0)	7/25 (28,0)	2/35 (5,7)	12/65 (18,4)	12/98 (12,2)
Tercer frotis NF (RT-PCR ^a)	1/3 (33,3)	3/14(21,4)	0/9 (0)	4/26 (15,4)	4/98 (4,0)

^aFrotis nasofaríngeo (NF). RT-PCR. Reacción en cadena de la polimerasa.

^bRendimiento=número total de muestras positivas/número total de muestras analizadas (%).

^cDiagnósticos =número total de muestras positivas/número total de pacientes diagnosticados de infección SARS-CoV-2.

probabilidad, siendo residual en pacientes con probabilidades pre-prueba bajas. Este es un hecho relevante puesto que, un resultado negativo de un frotis debe ser interpretado como un falso negativo en pacientes con un *score* alto, pero en pacientes con *score* bajo es suficiente para descartar la infección. Nuestros datos apoyan las reflexiones de una editorial reciente en la que se señala la importancia de establecer una probabilidad preprueba en la interpretación de un resultado negativo en las pruebas RT-PCR para el SARS-CoV-2 [7]. Estos datos en situaciones de menor incidencia (situación post-brote epidémico) podrían contribuir a racionalizar el uso de los recursos disponibles y a facilitar el manejo de estos pacientes, especialmente en los servicios de urgencias de hospitales.

Nuestro estudio presenta las limitaciones inherentes a un estudio transversal. Además, se ha realizado en un solo centro hospitalario y con un número de pacientes limitado. Aún con la precisión detectada, creemos que este *score* debe ser validado en otras poblaciones de pacientes antes de su utilización.

En este estudio preliminar realizado en plena pandemia hemos desarrollado un *score* de probabilidad pre-prueba basado en datos epidemiológicos y clínicos, que ha mostrado una buena precisión para el diagnóstico de certeza de infección por el SARS-CoV-2. Repetir la toma de muestra del frotis nasofaríngeo y su procesamiento con RT-PCR puede evitar los frecuentes errores de muestreo, pero solamente en escenarios de intermedia y alta probabilidad clínica, consumiendo recursos y tiempo en pacientes con probabilidad pre-prueba baja.

FINANCIACIÓN

Los autores declaran la no existencia de financiación en relación con el presente artículo.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

1. Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, Seilmaier M, Zange S, Müller MA, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*. 2020;581(7809):465-469. doi: 10.1038/s41586-020-2196-x.
2. Loeffelholz MJ, Tang YW. Laboratory diagnosis of emerging human coronavirus infections - the state of the art. *Emerg Microbes Infect*. 2020;9(1):747-756. doi: 10.1080/22221751.2020.1745095.
3. Tang YW, Schmitz JE, Persing DH, Stratton CW. The Laboratory Diagnosis of COVID-19 Infection: Current Issues and Challenges. *J Clin Microbiol*. 2020;00512-20. doi: 10.1128/JCM.00512-20.
4. Pan Y, Li X, Li Y, Yang G, Fan J, Tang Y, Zhao J, et al. Serological immunochromatographic approach in diagnosis with SARS-CoV-2 infected COVID-19 patients. *J Infect*. 2020. S0163-4453(20)30175-4. doi: 10.1016/j.jinf.2020.03.051.
5. Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, Liang WH, Ou CO, He JX, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med*. 2020;382(18):1708-1720. doi: 10.1056/NEJMoa2002032.
6. Rodríguez-Morales AJ, Cardona-Ospina JA, Gutiérrez-Ocampo E, Villamizar-Peña R, Holguín-Rivera Y, Escalera-Antezana JP, et al. Clinical, laboratory and imaging features of COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Travel Med Infect Dis*. 2020;34:101623. doi: 10.1016/j.tmaid.2020.101623
7. Woloshin S, Patel N, Kesselheim AA. False Negative Tests for SARS-CoV-2 Infection Challenges and Implications. *N Engl J Med* 2020; 383(6):e38. doi: 10.1056/NEJMp2015897.