



Original breve

Alberto Tenorio-Abreu
Ana Ruiz-Castillo
Antonio Francisco Guzmán-González
Alejandro Peña-Monje
José María Saavedra-Martín
Francisco Franco-Álvarez De Luna

Comparación entre cinco técnicas de PCR para el diagnóstico del SARS-CoV-2

UGC Microbiología. Hospital Universitario Juan Ramón Jiménez. Huelva.

Article history

Received: 16 July 2020; Revision Requested: 26 November 2020; Revision Received: 5 May 2022; Accepted: 4 June 2022; Published: 20 June 2022

RESUMEN

Introducción. Desde que aparecieron los primeros casos de SARS-CoV-2 son numerosas las técnicas que se han desarrollado para el diagnóstico o seguimiento de la infección, tanto técnicas directas como serológicas. La elección de una buena herramienta diagnóstica es fundamental para el control epidemiológico. El objetivo ha sido comparar cinco técnicas comercializadas de RT-PCR a tiempo real, en sensibilidad, especificidad y concordancia para la detección del SARS-CoV-2.

Material y métodos. Se compararon cinco kits comerciales de RT-PCR para la detección del SARS-CoV-2. Se tomaron ocho muestras positivas conocidas que se sometieron a siete diluciones o concentraciones diferentes y otras 135 muestras negativas para determinar valores de sensibilidad, especificidad y concordancia.

Resultados. La sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) para las técnicas de Palex, Roche y GeneXpert respecto a Seegene fueron idénticas, correspondientes a 98,21%, 100%, 100% y 99,26% respectivamente. Para Becton Dickinson la sensibilidad fue del 89,28%, la especificidad del 100%, el VPP del 100% y el VPN del 95,74%. La concordancia mediante el índice Kappa para Palex, Roche y GeneXpert fue del 0,9892, mientras que la concordancia para Becton Dickinson fue con un índice Kappa de 0,9215.

Conclusión. Todos los kits de RT-PCR comerciales presentaron elevadas sensibilidades y especificidades, así como VPP, VPN y concordancia.

Palabras claves: RT-PCR, SARS-Cov-2, comparación kits comerciales, pooling

Correspondencia:
Alberto Tenorio-Abreu.
UGC Microbiología Hospital Universitario Juan Ramón Jiménez. Ronda Exterior Norte s/n,
21005 Huelva.
E-mail: albeteno@hotmail.com

Comparison between five PCR techniques for the diagnosis of SARS-CoV-2

ABSTRACT

Introduction. Since the first cases of SARS-CoV-2 appeared, there have been numerous techniques that have been developed for the diagnosis or monitoring of infection, both direct and serological techniques. Choosing a good diagnostic tool is essential for epidemiological control. The objective was to compare five commercialized RT-PCR techniques in real time, in sensitivity, specificity and agreement for the detection of SARS-CoV-2.

Material and methods. Five commercial RT-PCR kits for the detection of SARS-CoV-2 were compared. Eight known positive samples were taken and subjected to seven different dilutions or concentrations, and another 135 negative samples were used to determine sensitivity, specificity, and agreement values.

Results. The sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV) for the Palex, Roche and GeneXpert techniques with respect to Seegene were identical, corresponding to 98.21%, 100%, 100% and 99.26% respectively. For Becton Dickinson the sensitivity was 89.28%, the specificity of 100%, the PPV of 100% and the NPV of 95.74%. The agreement using the Kappa index for Palex, Roche and GeneXpert was 0.9892, while the agreement for Becton Dickinson was with a Kappa index of 0.9215.

Conclusion. All commercial RT-PCR kits had high sensitivities and specificities, as well as PPV, NPV, and concordance.

Key words: RT-PCR, SARS-CoV-2, commercial kits comparison, pooling

INTRODUCCIÓN

El coronavirus tipo 2 del síndrome respiratorio agudo grave (SARS-CoV-2) es un nuevo tipo de coronavirus aparecido a finales de 2019 y causante de la pandemia 2019-2020. Se trata de un virus respiratorio que produce en los pacientes desde casos asintomáticos portadores hasta neumonía bilateral grave con dificultad respiratoria que puede conducir a la muerte. Es un virus con una alta tasa de transmisibilidad y rápida propagación a través de secreciones respiratorias contaminadas y diseminadas por tos, estornudos, contacto entre personas infectadas o fómites contaminados [1].

Desde que apareció este virus de origen desconocido en la ciudad de Wuhan en China en diciembre de 2019, se han desarrollado numerosas técnicas para su diagnóstico o detección. Se han desarrollado tanto técnicas directas para detección de antígenos o genoma con PCR [2,3], como técnicas indirectas para la detección de anticuerpos mediante inmunocromatografía o ELISA [4,5]. En este contexto de pandemia con rápida y gran propagación y gravedad en muchos de los pacientes, su diagnóstico rápido y certero se ha convertido en una pieza fundamental para el control epidemiológico de la enfermedad. Para ello, se ha considerado por su alta sensibilidad y especificidad como técnica de referencia la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) sobre muestras respiratorias para la detección de casos activos. En concreto se trata de su variante RT-PCR, que requiere de una retrotranscripción ARN a ADN previa a la PCR, debido a su naturaleza de un virus ARN.

El objetivo del presente estudio ha sido comparar cinco técnicas comercializadas de RT-PCR a tiempo real, en sensibilidad, especificidad y concordancia para la detección del SARS-CoV-2.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se compararon cinco técnicas comercializadas de RT-PCR a tiempo real para el diagnóstico del SARS-CoV-2 en términos de sensibilidad, especificidad y concordancia. Las cinco técnicas comparadas fueron Allplex™ 2019-nCoV Assay (Seegene), CerTest Viasure SARS-CoV-2 (Palex), Cobas® SARS-CoV-2 (Roche), BD MAX™ (Becton Dickinson) y Xpert® Xpress SARS-CoV-2 (Cepheid). Las técnicas de Seegene y Palex se realizaron en el termociclador a tiempo real CFX96 (Bio-Rad), la técnica de Roche se realizó en su plataforma Cobas 480, y las de Becton Dickinson y Cepheid en sus respectivas plataformas BD MAX y GeneXpert. Las técnicas de Seegene, Palex y Roche requirieron de extracción y purificación del genoma previo a la reacción, que se realizó mediante el extractor automático KingFisher (Thermo Fisher Scientific) con el protocolo MagMAX CORE Nucleic Acid Purification Kit, a partir de 200 µl de muestra con 90 µl de eluido final. BD MAX y GeneXpert llevaban incorporados en sus kits y/o plataformas la extracción de ácidos nucleicos. Los tiempos totales de cada técnica fueron de 2 horas y 30 minutos para Seegene (incluida extracción 40 minutos), 2 horas y 20 minutos para Palex (incluida extracción), 1 hora y 50 minutos para Roche (incluida extracción), 2 horas y

30 minutos para Becton Dickinson y 50 minutos para GeneXpert.

La técnica de Seegene fue diseñada para detectar tres dianas de tres genes diferentes del virus, que fueron los genes E, RdRP y N. Palex fue capaz de detectar dos dianas correspondientes a los genes ORF1ab y N. Roche y Becton Dickinson utilizaron una sola diana para la detección del SARS-CoV-2 correspondientes a los genes N y S respectivamente, mientras GeneXpert utilizó dos dianas correspondientes a los genes E y N2. Todas las técnicas contenían su control interno de amplificación, aunque ninguno de ellos estaba diseñado para el control y calidad en la toma de muestra. La muestra estándar que se utilizó fue un hisopado nasofaríngeo [6] por paciente que se unieron en un mismo recipiente con medio de transporte para virus.

Para realizar el análisis de datos se tomó como método de referencia la RT-PCR de Seegene por presentar mayor número de dianas en su diseño y tener más posibilidades de detectar regiones diferentes del genoma del virus. Para establecer límites de detección relativos se tomaron 4 muestras verdaderas positivas conocidas procedentes de pacientes ingresados con clínica típica y diagnosticada por PCR y confirmadas por secuenciación. A las 4 muestras se le realizaron siete diluciones seriadas con suero fisiológico correspondientes a 1:1, 1:10, 1:100, 1:1000, 1:10000, 1:100000 y 1:1000000. Para determinar parámetros de especificidad relativa se tomaron 135 muestras negativas mediante PCR. Para calcular la concordancia se utilizó el índice Kappa.

RESULTADOS

Se analizaron un total de 191 muestras, 56 positivas (correspondientes a 8 muestras positivas en 7 diluciones o concentraciones distintas) y 135 muestras negativas. Los valores de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) para las técnicas de Palex, Roche y GeneXpert respecto a Seegene fueron idénticas, correspondientes a 98,21%, 100%, 100% y 99,26% respectivamente. Para Becton Dickinson la sensibilidad fue del 89,28%, la especificidad del 100%, el VPP del 100% y el VPN del 95,74%. La concordancia mediante el índice Kappa para Palex, Roche y GeneXpert fue del 0,9892, mientras que la concordancia para Becton Dickinson fue con un índice Kappa de 0,9215. Todas las muestras negativas lo fueron por las cinco técnicas. Entre las 56 muestras positivas, 55 fueron detectadas también mediante Palex, Roche y GeneXpert, mientras que por Becton Dickinson se detectaron 50. En relación a los límites de dilución detectables, en todas las técnicas se detectaron en las cuatro muestras hasta la tercera dilución 1:1000. Mediante Palex y GeneXpert solo una muestra no fue detectada en la última dilución 1:1000000, mientras que por Roche también una muestra no fue detectada pero en la dilución 1:100000. Los datos detallados de positividad con su ciclo umbral de detección en cada una de las dianas en sus respectivas diluciones se presentan en la tabla 1. La diferencia media de CT en cada dilución 1:10 para cada una de las dianas y técnicas fueron de: 3,22, 3,11 y 2,89

Gen diana (CT)	Resultados de ciclo umbral (CT) de positivos de las distintas diluciones por las diferentes técnicas y genes diana.								
	Seegene			Palex		Roche	BD MAX	GeneXpert	
	E	RdRP	N	ORF1ab	E	E	S	E	N2
M1 1	14,45	17,68	19,37	19,8	21,08	17,85	16,6	16,3	18,7
M1 1/10	18,5	20,57	22,52	23,82	25,36	20,94	20,9	19,1	21,2
M1 1/100	22,92	24,34	25,58	28,72	29,71	25,35	25,4	22,4	25,4
M1 1/1000	26,26	28,56	29,9	30,59	31,54	28,68	28,7	25,8	28,3
M1 1/10000	29,18	31,09	32,97	34,24	34,88	31,14	32,1	29,1	31,1
M1 1/100000	32,09	34,04	35,93	37,35	38,03	34,95	35,8	32,3	34,9
M1 1/1000000	35,24	37,13	39,24	39,85	40,35	38,36	39,1	35,6	38,2
M2 1	17,55	19,27	21,37	21,63	23,85	20,2	18,8	19,1	21,2
M2 1/10	20,97	22,73	24,98	25,01	27,06	23,6	23,4	21,9	24,3
M2 1 / 100	24,93	26,62	28,92	28,98	30,81	27,27	27,6	25,3	27,4
M2 1 / 1000	27,93	30,01	31,84	32,27	33,85	30,03	30,5	28	30,1
M2 1 / 10000	31,13	32,6	34,37	35,4	35,82	32,32	NEG	31,4	33,5
M2 1/100000	34,51	35,15	37,83	37,9	38,12	35,12	36,8	35,1	36,2
M2 1/1000000	37,88	38,33	39,84	40,84	40,96	38,84	NEG	37,8	39,6
M3 1	20,24	22,1	23,65	23,18	25,42	22,71	26,1	21	23,5
M3 1/10	24,17	26,05	27,32	27,23	29,28	26,23	27,7	23,8	26,4
M3 1/100	28,89	30,97	31,21	32,35	33,82	30,36	29,3	26,7	29,4
M3 1/1000	31,62	34	34,26	36,11	37,49	32,8	32,6	30,1	33,4
M3 1/10000	35,82	38,06	37,11	NEG	39,15	34,93	34,5	33,1	35,9
M3 1/100000	36,54	38,55	37,42	NEG	40,26	35,79	NEG	37	40,5
M3 1/1000000	NEG	37,71	NEG	NEG	NEG	36,49	NEG	NEG	NEG
M4 1	19,85	21,18	22,51	22,63	24,32	22,11	21,5	20,5	22,8
M4 1/10	22,13	24,54	25,19	25,56	26,91	24,78	24,3	24,6	27,8
M4 1/100	26,95	28,7	29,46	30,18	31,09	29,01	30,9	27,1	29,5
M4 1/1000	30,37	32,95	33,36	34,87	34,84	32,54	33,4	30	32,8
M4 1/10000	35,24	NEG	36,01	38,5	39,35	35,88	36,3	33,4	36,7
M4 1/100000	38,53	NEG	37,2	NEG	40,37	NEG	NEG	37,6	40,8
M4 1/1000000	NEG	36,24	37,72	NEG	40,12	35,35	NEG	NEG	43,3
M5 1	22,02	23,73	25,44	25,32	27,12	24,58	23,71	23,2	25,4
M5 1/10	24,38	25,87	28,13	27,44	30,17	26,84	27,81	26,1	28,1
M5 1/100	27,25	28,14	31,36	29,85	32,64	30,52	29,39	28,7	30,4
M5 1/1000	30,39	30,91	34,08	32,93	35,42	33,41	33,61	31,9	33,5
M5 1/10000	33,15	34,21	36,12	36,31	38,91	36,37	36,12	35,3	36,3
M5 1/100000	36,76	37,81	38,28	38,78	40,08	35,89	39,15	38,1	38,9
M5 1/1000000	38,96	39,41	NEG	40,81	40,56	38,27	NEG	40,2	41,8
M6 1	18,56	20,43	22,53	20,35	22,32	20,35	20,46	20,6	21,5

Tabla 1		Resultados de ciclo umbral (CT) de positivos de las distintas diluciones por las diferentes técnicas y genes diana. (cont.)								
Gen diana (CT)	Seegene			Palex		Roche	BD MAX	GeneXpert		
	E	RdRP	N	ORF1ab	E	E	S	E	N2	
M6 1/10	21,32	23,87	25,84	22,57	25,81	23,86	23,11	23,4	23,8	
M6 1/100	24,59	28,49	27,95	25,96	28,9	25,45	26,84	25,6	27,4	
M6 1/1000	27,98	32,45	31,85	29,84	33,49	29,72	29,43	28,8	30,5	
M6 1/10000	30,58	35,86	35,81	33,67	35,42	33,71	33,51	32,8	33,9	
M6 1/100000	34,3	35,45	NEG	35,89	38,88	36,8	35,86	35,5	38,7	
M6 1/1000000	37,95	39,76	38,9	38,43	40,5	39,42	39,49	39,1	40,8	
M7 1	20,7	22,42	23,68	22,68	24,12	22,85	22,8	22,1	23,8	
M7 1/10	23,21	25,36	26,84	25,57	27,55	25,64	25,44	25,3	26,3	
M7 1/100	25,86	28,94	29,47	28,13	30,22	28,98	27,33	28,4	29,2	
M7 1/1000	28,43	32,11	33,56	31,18	33,47	32,71	30,52	30,1	31,9	
M7 1/10000	32,58	35,14	35,64	34,52	35,94	35,85	33,42	33,4	35,2	
M7 1/100000	36,74	37,45	36,41	37,09	38,63	37,46	36,75	37,5	38,6	
M7 1/1000000	39,23	38,78	39,76	40,46	40,86	39,89	39,84	39,2	40,6	
M8 1	21,3	23,53	24,63	23,68	25,36	23,04	23,11	22,9	23,6	
M8 1/10	23,86	26,49	27,52	26,54	28,58	26,48	26,34	26,7	27,2	
M8 1/100	26,49	29,82	30,48	29,87	31,22	29,71	29,86	29,5	30,5	
M8 1/1000	29,74	31,76	33,79	32,41	34,12	32,88	32,62	32,9	33,9	
M8 1/10000	32,53	34,83	37,96	35,84	36,82	35,42	35,57	35,6	37,6	
M8 1/100000	35,86	37,4	39,84	36,94	38,66	37,34	38,98	38,4	39,4	
M8 1/1000000	37,87	39,06	NEG	39,83	40,43	39,48	NEG	40,1	NEG	

M1= muestra 1, M2= muestra 2, M3= muestra 3, M4= muestra 4, M5= muestra 5, M6= muestra 6, M7= muestra 7, M8= muestra 8.

para los genes E, RdRP y N respectivamente para Seegene; 3,21 y 2,78 para los genes ORF1ab y E respectivamente para Palex; 2,98 para el gen E de Roche; 3,2 para el gen S de BD MAX; 3,07 y 3,12 para los genes E y N2 respectivamente para GeneXpert.

DISCUSIÓN

En el presente estudio se compararon cinco kits comerciales para la detección del genoma del SarsCov-2 mediante RT-PCR en muestras clínicas. La serie de las 28 muestras positivas estaba compuesta a su vez por cuatro muestras con elevadas cargas virales relativas iniciales deducidas por sus bajos CTs en la reacción en torno al ciclo 20. Las cuatro muestras se diluyeron de forma seriada hasta 1:1000000 con la finalidad de comparar los límites de detección relativos entre las cinco técnicas estudiadas.

La técnica de Seegene fue capaz de detectar todas las diluciones de las cuatro muestras en al menos una de sus tres dianas, demostrando ser la más sensible de las cinco comparadas, y que por ello se consideró de referencia para el cálculo de las sensibilidades y especificidades de los demás kits

comerciales estudiados. Los kits de Roche, Palex y GeneXpert mostraron idénticos valores de sensibilidad, especificidad, VPP y VPN, destacando la alta sensibilidad de los tres incluso en las diluciones más altas. Sin embargo, el kit de BD aunque mostró excelentes valores de especificidad, VPP y VPN, obtuvo un valor de sensibilidad algo más bajo en torno al 80%, no detectando el virus en las diluciones más altas de algunas de las muestras. Aunque hay que destacar que la plataforma BD MAX aporta la ventaja de realizar extracción genómica y amplificación en un solo paso de manipulación [7] pudiéndose realizar análisis individuales de urgencias al igual que GeneXpert [8].

Una de las principales limitaciones de los cinco kits comerciales comparados fue que ninguno contiene un sistema de control interno que verifique la calidad de la muestra, que demuestre que la muestra contiene células humanas mediante la incorporación de sondas y cebadores dirigidos a la detección de algún gen constitutivo humano. Como sería el caso del gen RNasa P comúnmente utilizado en PCR para la detección de virus respiratorios [9,10]. En este sentido, la sensibilidad de dichas pruebas puede verse afectadas por la falta de control de calidad de la muestra.

La concordancia en general fue excelente entre los cinco kits con un índice Kappa cercano al uno, aunque BD presentó un índice algo inferior debido a su menor sensibilidad mostrada. Otros estudios comparativos entre diferentes PCR para la detección de SARS-CoV-2 mostraron similares índices Kappa de concordancia a los del presente estudio, oscilando los índices entre 0,9 y 1 [11,12].

Por otra parte, en las diluciones seriadas al 1:10, la media de incremento de los CT en cada dilución para las diferentes dianas de todos los kits comerciales comparados osciló entre 3 y 3,5 por dilución, siendo concordante con un estudio chino [13] en el que también realizaron diluciones seriadas al 1:10 con incrementos de CT para las diferentes técnicas comparadas de 3,33 y 3,13. En el presente estudio se observa en la tabla 1 que en muchas de las dianas, el incremento de CT en las últimas diluciones es menor a la media, observándose en algunos casos hasta incrementos negativos. Estos datos hacen reflexionar sobre la posibilidad de utilizar técnicas de *pooling* para optimizar los recursos sin perder sensibilidad significativa como han demostrado algunos estudios [14,15], aunque en el presente estudio se trata de una consideración teórica y que su utilidad dependerá de la prevalencia esperada.

En conclusión, todos los kits de RT-PCR comerciales comparados presentan elevadas sensibilidades y especificidades, así como VPP, VPN y concordancia. Aunque con el kit de Seegene se obtuvo la mayor sensibilidad, siendo capaz de detectar todas las diluciones de las muestras positivas. Todos los kits, incluso diluyendo las muestras 1000 veces, fueron capaces de detectar el genoma del virus, por tanto, podría considerarse la posibilidad de realizar *pool*es de 5-10 muestras para optimizar el rendimiento en el cribado del virus.

FINANCIACION

Los autores declaran no haber recibido ninguna financiación para la realización de este estudio.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declara no tener conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

- Pascarella G, Strumia A, Piliago C, Bruno F, Del Buono R, Costa F et al. COVID-19 diagnosis and management: a comprehensive review. *J Intern Med.* 2020 Apr 29;10.1111/joim.13091. doi: 10.1111/joim.13091..
- Chan JF, Yip CC, To KK, Tang TH, Wong SC, Leung KH. Improved Molecular Diagnosis of COVID-19 by the Novel, Highly Sensitive and Specific COVID-19-RdRp/HeI Real-Time Reverse Transcription-PCR Assay Validated In Vitro and with Clinical Specimens. *J Clin Microbiol.* 2020 Apr 23;58(5):e00310-20.
- Pfefferle S, Reucher S, Nörz D, Lütgehetmann M. Evaluation of a quantitative RT-PCR assay for the detection of the emerging coronavirus SARS-CoV-2 using a high throughput system. *Euro Surveill.* 2020 Mar;25(9):2000152.
- Zainol Rashid Z, Othman SN, Abdul Samat MN, Ali UK, Wong KK. Diagnostic performance of COVID-19 serology assays. *Malays J Pathol.* 2020 Apr;42(1):13-21.
- Li Z, Yi Y, Luo X, Xiong N, Liu Y, Li S et al. Development and clinical application of a rapid IgM-IgG combined antibody test for SARS-CoV-2 infection diagnosis. *J Med Virol.* 2020 Feb 27;10.1002/jmv.25727. doi: 10.1002/jmv.25727. Online ahead of print.
- Wang X, Tan L, Wang X, Liu W, Lu Y, Cheng L et al. Comparison of nasopharyngeal and oropharyngeal swabs for SARS-CoV-2 detection in 353 patients received tests with both specimens simultaneously. *Int J Infect Dis.* 2020 May;94:107-109.
- Dalpe AH, Hofko M, Zimmermann S. Development and evaluation of a real-time PCR assay for detection of *Pneumocystis jirovecii* on the fully automated BD MAX platform. *J Clin Microbiol.* 2013 Jul;51(7):2337-43.
- Wolters F, van de Bovenkamp J, van den Bosch B, et al. Multi-center evaluation of cepheid xpert® xpress SARS-CoV-2 point-of-care test during the SARS-CoV-2 pandemic. *J Clin Virol.* 2020;128:104426.
- Dare R, Zhu Y, Williams JV, Griffin M, Talbot HK. Detection of influenza by real time RT-PCR is not affected by delays in respiratory specimen processing. *J Med Virol.* 2016;88(11):1891-1895.
- Cui D, Zhao D, Xie G, et al. Simultaneous detection of influenza A subtypes of H3N2 virus, pandemic (H1N1) 2009 virus and reassortant avian H7N9 virus in humans by multiplex one-step real-time RT-PCR assay. *Springerplus.* 2016;5(1):2054.
- Zhen W, Manji R, Smith E, Berry GJ. Comparison of Four Molecular In Vitro Diagnostic Assays for the Detection of SARS-CoV-2 in Nasopharyngeal Specimens [published online ahead of print, 2020 Apr 27]. *J Clin Microbiol.* 2020;JCM.00743-20.
- Pujadas E, Ibeh N, Hernandez MM, et al. Comparison of SARS-CoV-2 detection from nasopharyngeal swab samples by the Roche cobas 6800 SARS-CoV-2 test and a laboratory-developed real-time RT-PCR test [published online ahead of print, 2020 May 8]. *J Med Virol.* 2020;10.
- Yip CC, Sridhar S, Cheng AK, et al. Evaluation of the commercially available LightMix® Modular E-gene kit using clinical and proficiency testing specimens for SARS-CoV-2 detection [published online ahead of print, 2020 May 27]. *J Clin Virol.* 2020;129:104476.
- Wacharapluesadee S, Kaewpom T, Ampoot W, et al. Evaluating the efficiency of specimen pooling for PCR-based detection of COVID-19 [published online ahead of print, 2020 May 13]. *J Med Virol.* 2020;10.
- Ben-Ami R, Klochendler A, Seidel M, et al. Large-scale implementation of pooled RNA extraction and RT-PCR for SARS-CoV-2 detection [published online ahead of print, 2020 Jun 23]. *Clin Microbiol Infect.* 2020;S1198-743X(20)30349-9.