

Variación en la tasa de falsos negativos de las pruebas de RT-PCR de SARS-CoV-2 basadas en tiempo desde la exposición

Lauren M. Kucirka, MD, PhD *; Stephen A. Lauer, PhD *; Oliver Laeyendecker, PhD, MBA; Denali Boon, PhD; y Justin Lessler, PhD

Traducción: Dr. Ramiro Heredia (ramiroherediamd@gmail.com)

Investigación Original, [doi:10.7326/M20-1495](https://doi.org/10.7326/M20-1495). 18 de Agosto de 2020.

Antecedentes. Los test para el SARS-CoV-2 basado en la RT-PCR se utilizan para descartar una infección entre las personas de alto riesgo, como los pacientes hospitalizados expuestos y los trabajadores de la salud. Es fundamental comprender cómo el valor predictivo de la prueba varía con el tiempo desde la exposición y el inicio de los síntomas, y evitar que los resultados negativos de las pruebas le tranquilicen falsamente.

Objetivo. Estimar la tasa de falsos negativos por día desde la infección.

Diseño. Revisión de la literatura y análisis conjunto.

Entorno. 7 estudios publicados anteriormente que proporcionaron datos sobre la performance de la RT-PCR en relación al tiempo desde el inicio de los síntomas o a la exposición al SARS-CoV-2, utilizando muestras del tracto respiratorio superior (n = 1330).

Pacientes. Combinación de pacientes hospitalizados y ambulatorios con infección por SARS-CoV-2.

Medidas. Se ajustó un modelo jerárquico bayesiano para estimar la tasa de falsos negativos por día desde la exposición y el comienzo de los síntomas.

Resultados. Durante los 4 días desde la infección, antes del momento típico de inicio de los síntomas (día 5), la probabilidad de un resultado falso negativo en una persona infectada disminuye del 100% (IC del 95%, 100% a 100%) el día 1 al 67% (IC, 27% a 94%) el día 4. El día de inicio de los síntomas, la tasa mediana de falsos negativos fue del 38% (IC, 18% a 65%). Esto disminuyó al 20% (IC, 12% a 30%) el día 8 (3 días después del inicio de los síntomas) luego comenzó a aumentar nuevamente, desde 21% (IC, 13% a 31%) el día 9 a 66% (IC, 54% a 77%) el día 21.

Limitación. Estimaciones imprecisas debido a la heterogeneidad en el diseño de estudios en los que se basaron los resultados.

Conclusión. Se debe tener cuidado al interpretar las pruebas de RT-PCR para la infección por SARS-CoV-2, especialmente al principio del curso de infección, principalmente cuando se utilizan estos resultados como un fundamento para eliminar las precauciones destinadas a prevenir la transmisión posterior. Si la sospecha clínica es alta, la infección no debe descartarse sobre la base de una RT-PCR negativa sola, y la situación clínica y epidemiológica debe ser considerada cuidadosamente.

Fuente de financiamiento principal. Instituto Nacional de Alergias e Infecciosas Enfermedades, Sistema de Salud Johns Hopkins y CDC de Estados Unidos.

Las pruebas para SARS-CoV-2 basadas en la RT-PCR se utilizan a menudo para descartar la infección entre personas de alto riesgo, como pacientes hospitalizados expuestos y los trabajadores de la salud. Por lo tanto, es fundamental comprender cómo cambia el valor predictivo, en relación con el tiempo transcurrido desde la exposición o los síntomas, especialmente al utilizar los resultados de estas pruebas para tomar decisiones, como si dejar de usar equipos de protección personal, o permitir que los trabajadores de la salud expuestos regresen a trabajar. La sensibilidad y especificidad de las pruebas para SARS-CoV-2 basadas en RT-PCR, están mal caracterizadas, y el "período de ventana" después de la adquisición de la infección, en el que es más probable que las pruebas produzcan resultados falsos negativos, no es bien conocido.

Las pruebas precisas para SARS-CoV-2, seguidas de las medidas preventivas, son fundamentales en el entorno de atención médica para prevenir tanto la transmisión nosocomial como comunitaria. Sin embargo, la mayoría de los hospitales enfrentan una escasez crítica de capacidad de prueba del SARS-CoV-2, de equipo de protección personal y de personal de atención médica (1). A medida que avanza la epidemia, los hospitales cada vez más tienen que decidir cómo responder cuando un paciente o un trabajador de la salud tienen una exposición conocida al SARS-CoV-2. Aunque 14 días de aislamiento o cuarentena, con precauciones de transmisión aérea, sería un enfoque conservador para minimizar la transmisión según las pautas de los centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (2), esto no es factible para muchos hospitales dada la limitación de recursos.

A medida que las pruebas basadas en RT-PCR para el SARS-CoV-2 se están volviendo más disponibles, se utilizan cada vez más para descartar infección y para conservar los escasos equipos de protección personal y preservar la mano de obra. Cuando los trabajadores de la salud dan negativo en la prueba, están cada vez más siendo autorizados para regresar al trabajo; de manera similar, cuando los pacientes expuestos dan negativa para la prueba, las precauciones de transmisión aérea o de gotas pueden ser eliminadas. Si los resultados de las pruebas realizadas durante el período de ventana son negativas, y se interpretan como una evidencia sólida de que una persona expuesta es SARS-CoV-2-negativa, y podría ocurrir una transmisión evitable.

Es fundamental comprender cómo el valor predictivo de la prueba varía con el tiempo desde la exposición y el inicio de los síntomas, para evitar estar falsamente tranquilos por resultados negativos a partir de pruebas realizadas al principio del curso de la infección. El objetivo de nuestro estudio fue estimar la tasa de falsos negativos por día desde la infección.

MÉTODOS

Datos fuente

Como parte de un esfuerzo más amplio para proporcionar una evaluación crítica de la evidencia emergente, el Compendio de Investigación del Nuevo Coronavirus y la Escuela de Salud Pública de Johns Hopkins hicieron una revisión de la literatura para identificar pre-impresiones y artículos revisados por pares sobre el diagnóstico del SARS-CoV-2 (3). Los investigadores buscaron en

PubMed, bioRxiv y medRxiv utilizando una estrategia detallada en la Tabla de suplementos 1 (disponible en Annals.org). La búsqueda se actualizó por última vez el 15 de abril de 2020. De la búsqueda más amplia, identificamos artículos que proporcionaron datos sobre el rendimiento de RT-PCR por tiempo desde el inicio de los síntomas o la exposición usando muestras de hisopados nasales o de garganta entre pacientes testeados para SARS-CoV-2. Los criterios de inclusión fueron el uso de una prueba basada en RT-PCR, toma de muestras de la parte superior del tracto respiratorio, e informe del tiempo transcurrido desde el síntoma inicial o la exposición. Excluimos los artículos que no definían claramente el tiempo entre la prueba y la aparición de los síntomas o la exposición. Identificamos 7 estudios (2 pre-prints y 5 artículos revisados por pares) (4 a 10) con un total de 1330 muestras analizadas por RT-PCR. La **figura 1** resume los datos de origen. Un estudio de Kujawski y colegas (10) proporcionó muestras nasales y de garganta para cada paciente; Usamos solo las muestras nasales en nuestro análisis.

Cómo se definieron los casos

La mayoría de los estudios (Danis et al. [6], Woelfel y colegas [4], Kim y colegas [7], Kujawski y colegas [10] y Zhao y colegas [8]) hicieron series pruebas y requirieron al menos 1 resultado positivo de RT-PCR para considerarse un caso confirmado. Nuestro análisis agrupado incluyó solo los casos confirmados de esos estudios. Los estudios de Liu y colegas (9) y Guo y colegas (5) incluyeron tanto casos confirmados (≥ 1 resultado positivo de RT-PCR, similar a otros estudios; $n = 153$ para Liu y $n = 82$ para Guo), como casos probables, según se determinó por un conjunto de criterios clínicos ($n = 85$ para Liu y $n = 58$ para Guo). En ambos estudios, los pacientes del caso más probable fueron positivos para anticuerpos IgM o IgG SARS-CoV-2 (67 de 85 casos probables de Liu fueron IgM o IgG positivos, y 54 de 58 para Guo fueron IgM-positivos). Así, 22 participantes fueron considerados pacientes caso, en base a criterios clínicos, solamente porque no pudimos separarlos utilizando la información proporcionada. La **Tabla complementaria 2** (disponible en Annals.org) proporciona detalles adicionales sobre los datos de origen utilizados en nuestros cálculos. Como análisis de sensibilidad, para evaluar el efecto de los estudios individuales sobre nuestras inferencias, excluimos cada estudio a su vez a partir de cálculos de la probabilidad post-prueba de infección después de un resultado de RT-PCR negativo (**Suplemento Figura 3**, disponible en Annals.org).

Análisis estadístico

Modelo para estimar la tasa de falsos negativos y tasa de omisión falsa por tiempo desde la exposición

Usando un enfoque similar al de Leisenring y colegas (11) y Azman y colegas (12), ajustamos un modelo de regresión logística jerárquica bayesiana para la sensibilidad de la prueba $p_{j,t}$ con un efecto aleatorio para el estudio j y una spline polinomial cúbica para el tiempo logarítmico t desde exposición:

$$\begin{aligned}x_{j,t} &\sim \text{Binomial}(n_{j,t}, p_{j,t}) \\ \text{logit}(p_{j,t}) &= \beta_j + \beta_1 \log(t) + \beta_2 \log(t)^2 + \beta_3 \log(t)^3 \\ \beta_j &\sim \text{Normal}(\beta_0, \sigma^2)\end{aligned}$$

donde x_j , t es el número de pacientes que realizaron la prueba positiva en RT-PCR de n_j , t pruebas totales, t días después de la exposición en el estudio j . Se supuso que la exposición había sucedido 5 días antes de la aparición de los síntomas, según el período medio de incubación estimado previamente en un amplio estudio de transmisión en contactos domésticos (13) y entre los casos confirmados públicamente (14). Desde la sensibilidad, calculamos la tasa de falsos negativos esperada para cada día. También calculamos la probabilidad post-prueba de infección, asumiendo una probabilidad previa a la prueba basada en la tasa de ataque en contactos domésticos cercanos de pacientes con casos de SARS-CoV-2 en Shenzhen, China (77 de 686 [11,2%]) (14). Asumimos una especificidad del 100% para la RT-PCR, según lo informado en la Administración de Drogas y Alimentos de Estados Unidos en el prospecto del ensayo Quest RT-PCR para SARS-CoV-2, que basó su estimación en pruebas de 72 presuntas muestras negativas de las vías respiratorias superiores del tracto respiratorio inferior y 30 del tracto respiratorio inferior (15). La especificidad está respaldada además por un estudio europeo que no mostró reactividad cruzada con otros coronavirus en 297 muestras clínicas (16).

Análisis de sensibilidad

Aunque la Administración de Drogas y Alimentos informó que la especificidad para la RT-PCR del SARS-CoV-2 es del 100%, muchos de los estudios de apoyo se realizaron fuera del Estados Unidos, y no podemos excluir la variabilidad en la performance de la prueba. Por lo tanto, repetimos nuestro análisis asumiendo 90% de especificidad para evaluar la sensibilidad de nuestros resultados a esta suposición. Un segundo supuesto de nuestro modelo, el período de incubación de 5 días, se basó en una gran estudio de contactos domésticos en Shenzhen (13) y en casos confirmados públicamente (14). Hicimos análisis adicionales variando el período de incubación a 3 y 7 días para evaluar la sensibilidad de nuestros resultados a esta suposición. También repetimos análisis excluyendo 1 estudio por vez para evaluar el efecto sobre nuestras inferencias.

Disponibilidad y codificación de datos

Los datos y el código utilizados para ejecutar este análisis son disponible públicamente en <https://github.com/HopkinsIDD/covidRTPCR> (17).

Papel de la fuente de financiación

Los financiadores no influyeron en el diseño del estudio, conducta o denuncia.

RESULTADOS

Probabilidad de un resultado falso negativo entre pacientes positivos para SARS-CoV-2, por día desde la exposición

Durante los 4 días de infección antes del momento habitual de aparición de los síntomas (día 5), la probabilidad de un resultado falso negativo en una persona infectada disminuye de 100% (IC del 95%, 100% a 100%) en el día 1 al 67% (IC, 27% al 94%) el día 4, aunque existe una incertidumbre considerable en estos números. El día del inicio de los síntomas, la tasa mediana de falsos negativos fue 38% (IC, 18% a 65%) (**Figura 2**, arriba). Esto disminuyó al 20% (IC, 12% a 30%) el día 8 (3 días

después del inicio de los síntomas) y luego comenzó para aumentar nuevamente, del 21% (IC, 13% al 31%) en día 9 al 66% (IC, 54% a 77%) el día 21.

Probabilidad de infección posterior a la prueba si el resultado de RT-PCR es negativo (1 menos valor predictivo negativo)

Trasladar estos resultados a una probabilidad posterior a la prueba de infección, un resultado negativo en el día 3 reduciría nuestra estimación de la probabilidad relativa de que un paciente fue infectado en solo un 3% (IC, 0% a 47%) (por ejemplo, del 11,2%, la tasa observada en un gran estudio de contactos domésticos, al 10,9%) (Figura 2, parte inferior). Las pruebas realizadas el primer día de la aparición de los síntomas son más informativas, y reducen la probabilidad inferida de que un caso el paciente estaba infectado en un 60% (IC, 33% a 80%).

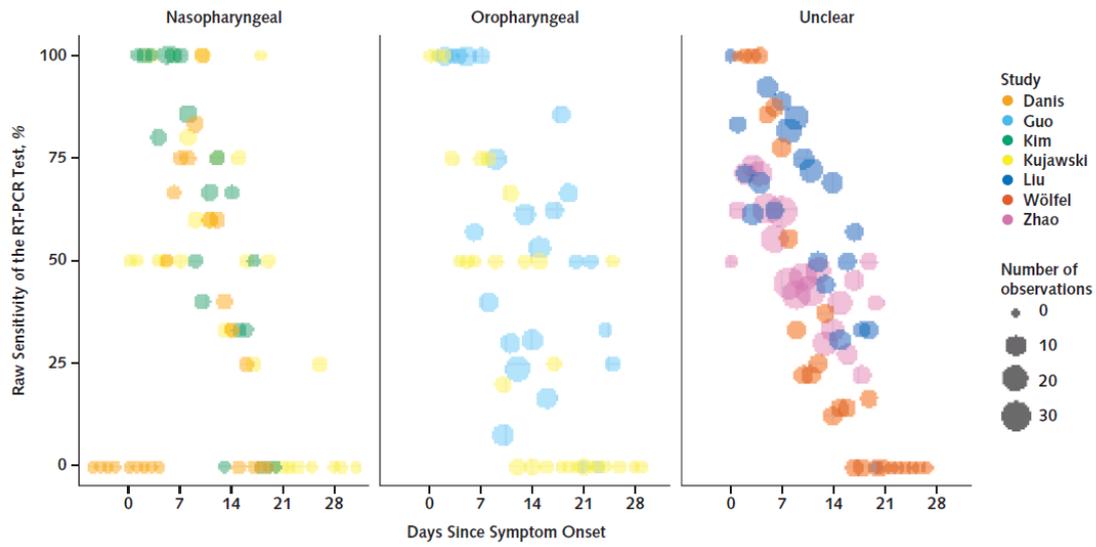
Variación en la probabilidad de infección posterior a la prueba si el resultado de RT-PCR es negativo, según la probabilidad previa a la prueba

La probabilidad de infección posterior a la prueba en un paciente con un resultado de RT-PCR negativo varía con la probabilidad pre-test de infección, es decir, la probabilidad de infección en base a la base de la magnitud de la exposición o presentación clínica. Cuando asumimos una alta probabilidad previa a la prueba de infección (4 veces la tasa de ataque observada en una gran estudio de cohorte), la probabilidad de infección posterior a la prueba fue como mínimo 14% (IC, 9% a 20%) 8 días después de la exposición (Figura 3). Cuando asumimos una probabilidad previa a la prueba más baja del 5,5% (la mitad de la tasa de ataque observada), la probabilidad de infección posterior a la prueba se redujo al mínimo 8 días después de la exposición (1,2% [IC, 0,7% a 2,0%]).

Análisis de sensibilidad

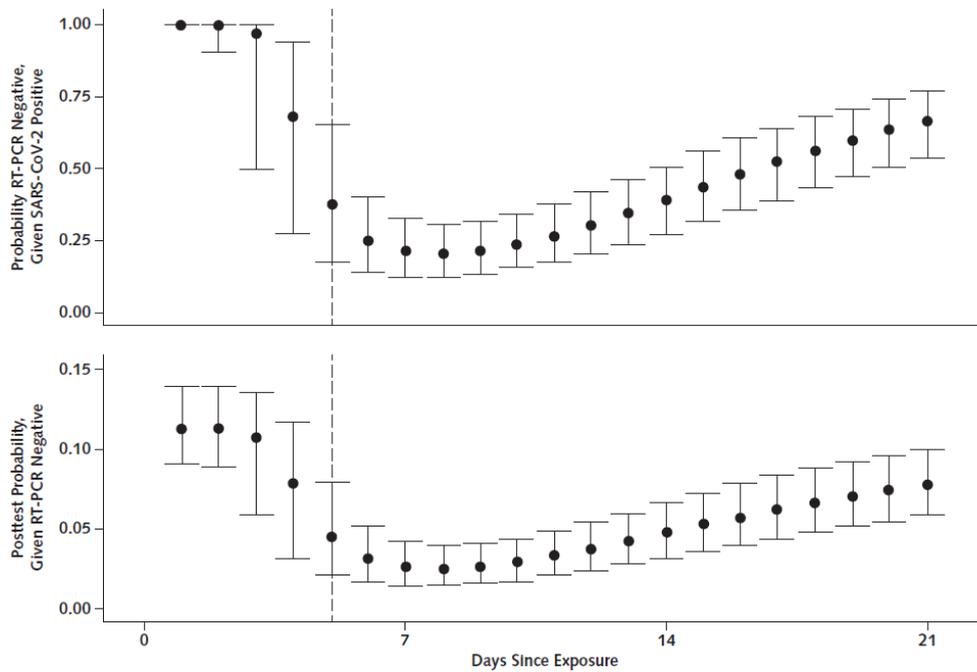
Cuando repetimos nuestro análisis asumiendo una especificidad de RT-PCR del 90% en lugar del 100%, los resultados fueron muy similares (**Figura 1 del Suplemento**, disponible en Annals.org). Encontramos una mayor probabilidad de infección en el ajuste de un resultado de RT-PCR negativo, con la mayor diferencia que se produjo el día 2 (12,4% frente a 11,3% [1,1 punto porcentual más alto]). Cuando repetimos nuestros análisis variando el período de incubación, encontramos que un inicio más temprano de los síntomas condujo a una disminución más rápida en la tasa de omisiones falsas y un tiempo de aparición tardía llevó a una disminución más lenta; sin embargo, las curvas eran similares en general, y nuestras inferencias primarias siguen siendo las mismas relativo a la fecha de inicio (Suplemento Figura 2, disponible en Annals.org). Cuando repetimos nuestro análisis de la probabilidad de infección posterior a la prueba excluyendo un estudio diferente cada vez, nuestras inferencias no cambiaron (Suplemento de la figura 3).

Figure 1. Sensitivity of RT-PCR tests, by study and days since symptom onset, for nasopharyngeal samples (*left*), oropharyngeal samples (*middle*), and unspecified upper respiratory tract (*right*).



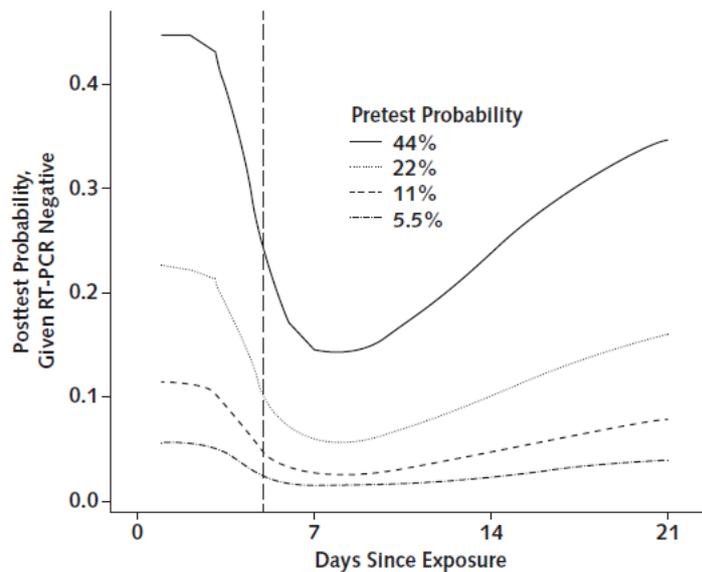
RT-PCR = reverse transcriptase polymerase chain reaction.

Figure 2. Probability of having a negative RT-PCR test result given SARS-CoV-2 infection (*top*) and of being infected with SARS-CoV-2 after a negative RT-PCR test result (*bottom*), by days since exposure.



RT-PCR = reverse transcriptase polymerase chain reaction; SARS-CoV-2 = severe acute respiratory syndrome coronavirus 2.

Figure 3. Posttest probability of SARS-CoV-2 infection after a negative RT-PCR result, by pretest probability of infection.



RT-PCR = reverse transcriptase polymerase chain reaction; SARS-CoV-2 = severe acute respiratory syndrome coronavirus 2.

DISCUSIÓN

Durante los 4 días de infección antes del momento habitual de aparición de los síntomas (día 5), la probabilidad de un resultado falso negativo en una persona infectada disminuye de un 100% el día 1 al 68% el día 4. El día de inicio de síntomas, la tasa media de falsos negativos fue del 38%. Esto disminuyó al 20% el día 8 (3 días después del inicio de síntomas) luego comenzó a aumentar nuevamente, del 21% en el día 9 a 66% el día 21. Se minimizó la tasa de falsos negativos 8 días después de la exposición, es decir, 3 días después de la aparición de síntomas en promedio. Como tal, esto puede ser el momento óptimo para testear si el objetivo es minimizar los resultados falsos negativos. Cuando la probabilidad pre-test de infección es alta, la probabilidad post-prueba sigue siendo alta, incluso con un resultado negativo. Además, si la prueba es realizada inmediatamente después de la exposición, la probabilidad pre-test de la prueba previa es igual a la probabilidad post-prueba negativa, lo que significa que la prueba no proporciona información adicional sobre la probabilidad de infección.

Desde que comenzó el brote, se han planteado preocupaciones sobre la escasa sensibilidad de las pruebas basadas en RT-PCR (18); 1 estudio ha sugerido que esto podría ser tan bajo como 59% (19). Hemos diseñado un modelo disponible públicamente que proporciona un marco para estimar el desempeño de estas pruebas por tiempo desde la exposición y puede actualizarse a medida que se disponga de datos adicionales.

Las pruebas para SARS-CoV-2 basadas en RT-PCR agregaron poco valor diagnóstico en los días inmediatamente posteriores a la exposición. Esto es consistente con un período de ventana entre la adquisición de la infección y la detectabilidad por RT-PCR vista en otras infecciones virales, como el VIH y la hepatitis C (20, 21). Nuestro estudio sugiere un período de ventana de 3 a 5 días, y no recomendamos tomar decisiones con respecto a eliminar las precauciones de contacto o finalizar

cuarentena sobre la base de los resultados obtenidos en este período en ausencia de síntomas. Aunque la tasa de falsos negativos se minimiza 1 semana después de la exposición, permanece alta, en un 21%. Los posibles mecanismos para una alta tasa de falsos negativos incluyen la variabilidad en la cantidad individual de eliminación de virus y en las técnicas de recolección de muestras.

Una consideración es si las pruebas en serie ofrecen algún beneficio en el rendimiento de la prueba en comparación con una prueba única. Si asumimos la independencia de los resultados de la prueba, las pruebas en serie reducirían casi con certeza la tasa de falsos negativos; sin embargo, sin más datos sobre el mecanismo subyacente para la alta tasa de falsos negativos, esta suposición puede no estar justificada. Por ejemplo, si la tasa se debió a la variabilidad individual en la diseminación viral, el rendimiento probablemente no mejoraría con las pruebas en serie.

Aunque somos conscientes de que no existen estudios, algunos informes preliminares sugieren falta de independencia; por ejemplo, en 1 informe de caso de una persona con infección confirmada sobre la base de tanto hallazgos en pruebas radiológicas como positividad de RT-PCR de aspirados endotraqueales, los resultados de RT-PCR de hisopados nasofaríngeos fueron negativos a lo largo de la evolución clínica (6). Hacen falta más estudios para caracterizar mejor el mecanismo subyacente para un rendimiento diagnóstico deficiente de las pruebas de RT-PCR para SARS-CoV-2.

La relación entre un resultado falso negativo y la infectividad no está clara, y los pacientes que se testean negativos en muestras de hisopados nasofaríngeos pueden tener menos probabilidades de transmitir el virus independientemente del estado real del caso. Encontramos un aumento en la tasa de falsos negativos a partir de 9 días después de la exposición; sin embargo, es posible que algunos de los resultados posteriores no eran falsos negativos reales, sino más bien representaron la eliminación de la infección. Por lo tanto, la interpretación más adelante en el curso clínico depende del propósito de la prueba: si el objetivo es retirar un paciente del aislamiento, estos resultados negativos pueden ser correctos, aunque se necesitan más datos, dados los estudios que muestran replicación viral en otros sitios. Sin embargo, si el objetivo de la prueba es evaluar si es necesario un seguimiento o si el paciente debe ser tratado como SARS-CoV-2-positivo para el propósito de seguimiento de contactos, es posible que la prueba no proporcione información y la precaución deba usarse en la toma de decisión. Porque los anticuerpos aparecen más tarde en el curso de infección, una combinación de pruebas de anticuerpos y RT-PCR podría ser más útil para pacientes más remotos de los síntomas o de la exposición.

Nuestro estudio tiene varias limitaciones. Hubo una significativa heterogeneidad en el diseño y conducción de los estudios subyacentes a partir de los cuales se utilizaron los datos de nuestro análisis. Sin embargo, cuando hicimos un análisis de sensibilidad excluyendo cada estudio a su vez, encontramos que ningún estudio fue especialmente influyente y las inferencias se mantuvieron prácticamente sin cambios. Las técnicas de recolección de muestras variaron entre los estudios (hisopados orofaríngeos versus nasofaríngeos), y varios estudios indicaron que las muestras eran del tracto respiratorio superior sin proporcionar más detalles. Por lo tanto, no pudimos explicar completamente las diferencias en las técnicas de recolección de muestras. La mayoría de estudios analizaron muestras en el momento de la aparición de los síntomas en lugar del tiempo de exposición, lo que genera una gran variación en las estimaciones en los primeros días después de la exposición. Nuestro modelo es aplicable solo en el contexto de una exposición única conocida, no en el entorno de exposición continua, como en los trabajadores de la salud que pueden estar expuestos

diariamente a pacientes con SARS-CoV-2-positivo. Finalmente, la mayoría de los estudios definieron casos positivos verdaderos como aquellos con al menos resultado de RT-PCR positivo, lo que significa que los pacientes que nunca dieron positivo no se incluyeron; esto podría llevar a una subestimación de la tasa de falsos negativos verdaderos. Dos estudios incluyeron casos probables basados en datos clínicos y características epidemiológicas, incluso si los pacientes tenían un resultado positivo de RT-PCR o serología. Al ser los criterios tales como fiebre, síntomas respiratorios y los hallazgos de imagen son inespecíficos, la clasificación errónea es probable, donde alguna proporción de casos probables son realmente negativos verdaderos en lugar de negativos falsos. Nosotros creemos que este efecto fue pequeño porque excluyendo estos estudios de nuestro análisis no cambiaron nuestra inferencias.

En resumen, se debe tener cuidado al interpretar las pruebas de RT-PCR para la infección por SARS-CoV-2, particularmente temprano en el curso de la infección y especialmente cuando se usan estos resultados como base para eliminar las precauciones destinadas a prevenir la transmisión posterior. Si la sospecha clínica es alta, no debe descartarse la infección en el base de RT-PCR sola, y la clínica y situación epidemiológica deben ser considerada cuidadosamente. En muchos casos, se desconoce el tiempo de exposición y se realizan las pruebas sobre la base del tiempo de inicio de los síntomas. La tasa de falsos negativos es más baja 3 días después de la aparición de los síntomas, o aproximadamente 8 días después de la exposición. Los médicos deben considere esperar de 1 a 3 días después de la aparición de los síntomas para minimizar la probabilidad de un resultado falso negativo. Hacen falta más estudios para caracterizar el rendimiento de las pruebas y la investigación enfoques de mayor sensibilidad son fundamentales.

REFERENCIAS

1. The Lancet. COVID-19: protecting health-care workers [Editorial]. *Lancet*. 2020;395:922. [PMID: 32199474] doi:10.1016/S0140-6736(20)30644-9
2. Centers for Disease Control and Prevention. Coronavirus disease 2019 (COVID-19).2020.Accessed at www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/guidance-risk-assesment-hcp.html on 31 March 2020.
3. Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health. 2019 NovelCoronavirus Research Compendium (NCRC). 2020. Accessed at<https://ncrc.jhsph.edu> on 8 May 2020.
4. Woñ Ifel R, Corman VM, Guggemos W, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*. 2020. [PMID: 32235945] doi:10.1038/s41586-020-2196-x
5. Guo L, Ren L, Yang S, et al. Profiling early humoral response to diagnose novel coronavirus disease (COVID-19). *Clin Infect Dis*. 2020. [PMID: 32198501] doi:10.1093/cid/ciaa310
6. Danis K, Epaulard O, Be´net T, et al; Investigation Team. Cluster of coronavirus disease 2019 (Covid-19) in the French Alps, 2020. *Clin Infect Dis*. 2020. [PMID: 32277759] doi:10.1093/cid/ciaa424
7. Kim ES, Chin BS, Kang CK, et al; Korea National Committee for Clinical Management of COVID-19. Clinical course and outcomes of patients with severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection: a preliminary report of the first 28 patients from the Korean cohort study on COVID-19. *J Korean Med Sci*. 2020;35:e142. [PMID: 32242348] doi:10.3346/jkms.2020.35.e142

8. Zhao J, Yuan Q, Wang H, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019. *Clin Infect Dis*. 2020. [PMID: 32221519] doi:10.1093/cid/ciaa344
9. Liu L, Liu W, Wang S, et al. A preliminary study on serological assay for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) in 238 admitted hospital patients. Preprint. Posted online 8 March 2020. medRxiv. doi:10.1101/2020.03.06.20031856
10. Kujawski SA, Wong KK, Collins JP, et al. First 12 patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) in the United States. Preprint. Posted online 12 March 2020. medRxiv. doi:10.1101/2020.03.09.20032896
11. Leisenring W, Pepe MS, Longton G. A marginal regression modelling framework for evaluating medical diagnostic tests. *Stat Med*. 1997;16:1263-81. [PMID: 9194271]
12. Azman AS, Lauer S, Bhuiyan MTR, et al. *Vibrio cholerae* O1 transmission in Bangladesh: insights from a nationally-representative serosurvey. Preprint. Posted online 16 March 2020. medRxiv. doi:10.1101/2020.03.13.20035352
13. Lauer SA, Grantz KH, Bi Q, et al. The incubation period of coronavirus disease 2019 (COVID-19) from publicly reported confirmed cases: estimation and application. *Ann Intern Med*. 2020. [PMID: 32150748] doi:10.7326/M20-0504
14. Bi Q, Wu Y, Mei S, et al. Epidemiology and transmission of COVID-19 in Shenzhen China: analysis of 391 cases and 1,286 of their close contacts. Preprint. Posted online 27 March 2020. medRxiv. doi:10.1101/2020.03.03.20028423
15. Quest Diagnostics. SARS-CoV-2 RNA, qualitative real-time RTPCR (test code 39433): package insert. Accessed at www.fda.gov/media/136231/download on 20 April 2020.
16. Corman VM, Landt O, Kaiser M, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill*. 2020;25. [PMID: 31992387] doi:10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045
17. Kucirka LM, Lauer SA, Laeyendecker O, et al. Analysis of RT-PCR sensitivity by day since exposure or symptom onset. 2020. Accessed at <https://github.com/HopkinsIDD/covidRTPCR> on 26 April 2020.
18. Krumholz HM. If you have coronavirus symptoms, assume you have the illness, even if you test negative. *The New York Times*. April 2020. Accessed at www.nytimes.com/2020/04/01/well/live/coronavirus-symptoms-tests-false-negative.html on 20 April 2020.
19. Ai T, Yang Z, Hou H, et al. Correlation of chest CT and RT-PCR testing in coronavirus disease 2019 (COVID-19) in China: a report of 1014 cases. *Radiology*. 2020:200642. [PMID: 32101510] doi:10.1148/radiol.2020200642
20. Konrad BP, Taylor D, Conway JM, et al. On the duration of the period between exposure to HIV and detectable infection. *Epidemics*. 2017;20:73-83. [PMID: 28365331] doi:10.1016/j.epidem.2017.03.002
21. Glynn SA, Wright DJ, Kleinman SH, et al. Dynamics of viremia in early hepatitis C virus infection. *Transfusion*. 2005;45:994-1002. [PMID: 15934999]