

Curso clínico y diseminación viral molecular entre pacientes asintomáticos y sintomáticos con infección por SARS-CoV-2 en un centro de tratamiento comunitario en la República de Corea

Seungjae Lee, MD; Tark Kim, MD; Eunjung Lee, MD; Cheolgu Lee, MD; Hojung Kim, MD; Heejeong Rhee, MD; Se Yoon Park, MD; Hyo-Ju Son, MD; Shinae Yu, MD; JungWan Park, MD; Eun Ju Choo, MD; Suyeon Park, MS; Mark Loeb, MD; Tae Hyong Kim, MD.

Department of Internal Medicine, Soonchunhyang University Seoul Hospital, 59, Daesagan-ro, Yongsan-gu, Seoul, Republic of Korea.

JAMA Internal Medicine, Investigación Original, doi:[10.1001/jamainternmed.2020.3862](https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2020.3862), 6 de agosto, 2020

IMPORTANCIA Existe información limitada sobre el curso clínico y la carga viral en pacientes asintomáticos infectados con SARS-CoV-2.

OBJETIVO Describir cuantitativamente la diseminación viral molecular del SARS-CoV-2 en pacientes asintomáticos y sintomáticos.

DISEÑO, ENTORNO Y PARTICIPANTES Se realizó una evaluación retrospectiva de una cohorte de 303 pacientes sintomáticos y asintomáticos con infección por SARS-CoV-2 entre el 6 de marzo y 26 de marzo de 2020. Los participantes fueron aislados en un centro de tratamiento comunitario en Cheonan, República de Corea.

PRINCIPALES RESULTADOS Y MEDIDAS Los datos epidemiológicos, demográficos y de laboratorio fueron recopilados y analizados. El personal de atención médica identificó cuidadosamente a los pacientes con síntomas durante el aislamiento. La decisión de liberar a una persona del aislamiento se basó en los resultados de la RT-PCR de las muestras del tracto respiratorio superior (hisopado nasofaríngeo y orofaríngeo) e inferior (esputo) para el SARS-CoV-2. Esta prueba se realizó los días 8, 9, 15 y 16 de aislamiento. Los días 10, 17, 18 y 19, se realizaron RT-PCR del tracto respiratorio superior o inferior a criterio del médico. Se determinaron los valores de umbral de ciclo (Ct) en RT-PCR para la detección de SARS-CoV-2 en pacientes asintomáticos y sintomáticos.

RESULTADOS De los 303 pacientes con infección por SARS-CoV-2, la mediana (rango intercuartílico) de la edad era de 25 (22-36) años y 201 (66,3%) eran mujeres. Solo 12 (3,9%) de los pacientes tenían comorbilidades (10 tenían hipertensión, 1 tenía cáncer y 1 tenía asma).

Entre los 303 pacientes con infección por SARS-CoV-2, 193 (63,7%) presentaban síntomas en el momento del aislamiento. De los 110 (36,3%) pacientes asintomáticos, 21 (19,1%) desarrollaron síntomas durante el aislamiento.

La mediana (rango intercuartílico) del intervalo de tiempo desde la detección del SARS-CoV-2 hasta el inicio de síntomas en los pacientes pre-sintomáticos fue de 15 (13-20) días. La proporción de participantes con negativización al día 14 y al día 21 desde el diagnóstico fueron 33,7% y 75,2%, respectivamente, en los pacientes asintomáticos y 29,6% y 69,9%, respectivamente, en pacientes sintomáticos (incluidos los pacientes pre-sintomáticos). El tiempo medio (EE) desde el diagnóstico hasta la primera negativización fue de 17 (1,07) días para los pacientes asintomáticos y de 19,5 (0,63) días para los pacientes sintomáticos (incluidos pre-sintomáticos) ($p = 0,07$). Los valores de Ct para el gen de la envoltura (env) de las muestras del tracto respiratorio inferior mostraron que, las cargas virales en los pacientes asintomáticos desde el diagnóstico hasta el alta, tendieron a disminuir más lentamente en la interacción temporal que en los pacientes sintomáticos (incluidos los pre-sintomáticos) ($\beta = -0,065$ [EE,0,023]; $P = 0,005$).

CONCLUSIONES Y RELEVANCIA En este estudio de cohorte de pacientes sintomáticos y asintomáticos con infección por SARS-CoV-2, que fueron aislados en un centro de tratamiento comunitario en Cheonan, en la República de Corea, los valores de Ct en los pacientes asintomáticos fueron similares a los de pacientes sintomáticos. Puede ser necesario aislar a los pacientes asintomáticos para controlar la propagación del SARS-CoV-2.

Puntos clave

Pregunta ¿Existen diferencias en la carga viral entre los pacientes asintomáticos y los pacientes sintomáticos con SARS-CoV-2?

Hallazgos En este estudio de cohorte, que incluyó a 303 pacientes con infección por SARS-CoV-2 aislados en un centro de tratamiento comunitario en la República de Corea, 110 (36,3%) eran asintomáticos al momento del aislamiento y 21 de estos (19,1%) desarrollaron síntomas durante el aislamiento. Los valores de umbral de ciclo de la RT-PCR para el SARS-CoV-2 en los pacientes asintomáticos fueron similares a aquellos en los pacientes sintomáticos.

Significado Muchas personas con infección por SARS-CoV-2 permanecieron asintomáticas durante un período prolongado, y la carga viral fue similar a la de los pacientes sintomáticos; por lo tanto, el aislamiento de las personas infectadas debe realizarse independientemente de los síntomas.

Desde los primeros casos de SARS-CoV-2 en Wuhan, China, en diciembre del 2019,¹ se han documentado un total de 4.789.205 casos confirmados por laboratorio y 318.789 muertes globalmente al 20 de mayo del 2020.² Un explosivo brote entre un grupo religioso en Daegu, República de Corea (República de Corea), en febrero de 2020 llevó a una estrategia de contención vigorosa, que incluyó pruebas masivas y un activo rastreo de contactos. Como el número de casos sobrepasó la capacidad del sistema de salud, el Ministerio de Salud y Bienestar de Corea decidió aislar a los pacientes asintomáticos y pauci-sintomáticos en instalaciones temporales en centros comunitarios de tratamiento (CTC).³ El potencial de transmisión de las personas asintomáticas se ha citado como un factor importante en el control de la propagación de la nueva enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19),⁴ pero hay información limitada sobre el curso clínico y las cargas

virales de las personas asintomáticas con infección por SARS-CoV-2. Usando una cohorte de pacientes asintomáticos en un CTC, describimos el curso clínico de la infección asintomática y comparamos cuantitativamente la carga viral molecular de SARS-CoV-2 entre los pacientes asintomáticos y sintomáticos.

Métodos

Diseño del estudio y participantes

Un estudio de cohorte retrospectiva se realizó en un CTC en Cheonan, ROK, entre el 6 y el 26 de marzo de 2020. En total, se incluyeron 303 pacientes de Daegu con infección por SARS-CoV-2. El CTC era anteriormente un edificio de dormitorios para funcionarios públicos, propiedad del gobierno. Los pacientes con infección confirmada fueron aislados en espacios solitarios (92%) o compartidos con habitaciones separadas (8%). El personal de salud incluyó a 8 médicos, 12 enfermeras y 8 auxiliares de enfermería. Los médicos se hicieron cargo del seguimiento de síntomas a través de llamadas telefónicas diarias y la toma de muestras de los pacientes. La temperatura corporal era monitoreada dos veces al día. Los pacientes podían ser atendidos por un médico a demanda. La zona limpia, donde trabajaban los trabajadores sanitarios, se separó de la zona del paciente. Se ubicó junto a la entrada un contenedor con presión negativa, con un equipo para tomar de radiografías portátiles. El Centro de Control de Enfermedades y Prevención de Corea recomendó el fin del aislamiento después de 2 resultados negativos consecutivos con 24 horas de diferencia, después de 1 a 2 semanas desde el aislamiento. Se realizaron RT-PCR de muestras del tracto respiratorio superior (URT) (hisopo nasofaríngeo y orofaríngeo) e respiratorio inferior (LRT) (esputo) para el SARS-CoV-2 fueron en los días 8, 9, 15 y 16 de aislamiento. Los días 10, 17, 18, y 19, se realizaron ensayos de RT-PCR de muestras URT o LRT a criterio del médico. Una conversión negativa (negativización) de la RT-PCR para SARS-CoV-2 se definió como resultados negativos tanto de las muestras del URT como del LRT, y la mediana la hora de la primera conversión negativa se calculó a partir de la fecha del diagnóstico. Se investigaron los datos sobre características demográficas, comorbilidades, síntomas y signos y los resultados de la RT-PCR para SARS-CoV-2. Los pacientes asintomáticos fueron definidos como aquellos sin síntomas o signos de infección con SARS-CoV-2, durante el período de estudio, desde la fecha del diagnóstico. Los pacientes pre-sintomáticos se definieron como asintomáticos desde el diagnóstico hasta la colocación en aislamiento, con desarrollo posterior de los síntomas durante la observación. Este estudio fue aprobado por la Junta de Revisión Institucional (IRB) del Hospital de Seúl, Universidad de Soonchunhyang (IRB No. 2020-04-007). El IRB renunció al requerimiento de consentimiento informado del paciente debido a la naturaleza retrospectiva del estudio y su impracticabilidad. Este estudio siguió las guías de Fortalecimiento de la Presentación de informes de Estudios Observacionales en Epidemiología (STROBE).

Recolección de muestras y RT-PCR para SARS-CoV-2

Las muestras de tracto respiratorio superior se obtuvieron tanto de hisopados de nasofaríngeo como de orofaríngeo, tomadas por personal médico capacitado (médicos y enfermeras). Para las muestras de tracto respiratorio inferior, se les dieron a los participantes instrucciones la noche anterior para recoger un primer esputo matutino (después de hacer gárgaras) en un recipiente para muestras; se realizaron RT-PCR para SARS-CoV-2 se realizaron utilizando las pruebas Allplex 2020- ensayo nCoV

(Seegene, Seúl, República de Corea) para determinar la presencia de virus mediante la identificación de 3 marcadores genéticos: gen envoltura (env), gen ARN polimerasa dependiente de ARN (RdRp) y gen de la proteína nucleocápside (N). El umbral del ciclo (Ct) durante la prueba de RT-PCR se refiere a cuando ocurre la detección de los amplicones virales, lo que se correlaciona inversamente con la cantidad de ARN presente. Un valor Ct más bajo indica grandes cantidades de RNA viral. Se consideró positivo cuando los valores de Ct de todos los genes tenían menos de 40 ciclos.

Análisis estadístico

Las variables categóricas se expresaron como conteos y frecuencias, y las variables continuas se expresaron como medianas y rangos intercuartílicos (IQR) o medias y DE o EE. Las proporciones para las variables categóricas se compararon utilizando χ^2 o Test Exacto de Fisher. Las variables continuas se analizaron utilizando el Método de Prueba U de Whitney. Las proporciones de conversión negativa fueron estimadas mediante análisis de supervivencia, Plot de Kaplan-Meyer y pruebas de log-rank para determinar la diferencia en el tiempo medio de la primera conversión negativa del diagnóstico entre pacientes asintomáticos y sintomáticos (incluidos pre-sintomáticos). Para estimar los efectos marginales y la interacción de tiempo lineal por grupos Por grupo, se utilizaron ecuaciones de estimación generalizadas para comparar si son apropiadas la dinámica de los valores de Ct entre los pacientes asintomáticos y pacientes sintomáticos (incluidos pre-sintomáticos). Todos los análisis estadísticos se realizaron con el software SPSS, versión 26.0 (IBM Corporation). La significancia estadística se fijó en $p < 0,05$.

Resultados

Características clínicas y pronóstico de los pacientes asintomáticos

Como se muestra en la tabla, la edad mediana (IQR) de los pacientes fue 25 (22-36) años y 201 (66,3%) eran mujeres. Solo 12 (3,9%) pacientes tenían comorbilidades (10 tenían hipertensión, 1 tenía cáncer, y uno tenía asma). El tiempo medio (IQR) desde el diagnóstico a la fecha de aislamiento fue de 6 (6-9) días. De 303 pacientes inscriptos, 110 (36,3%) estaban asintomáticos en el momento del aislamiento. De estos pacientes asintomáticos, 21 (19,1%) desarrollaron síntomas durante el aislamiento. El intervalo de tiempo medio (IQR) desde el diagnóstico al inicio de los síntomas en los pacientes pre-sintomáticos fue de 15 (13-20) días. Los síntomas más comunes entre 193 pacientes sintomáticos al momento del aislamiento fueron tos (108 [56,0%]), rinorrea/congestión nasal (88 [45,6%]) y producción de esputo (53 [27,5%]), seguidos de dolor de garganta (52 [26,9%]), disosmia (20 [10,4%]), diarrea (10 [5,2%]), disgeusia (7, [3,6%]), dolor abdominal (4 [2,1%]) y vómitos (1 [0,5%]). Al 10 de marzo del 2020, un paciente sintomático fue trasladado al hospital debido a vómitos intensos. Del 15 de marzo al 16 de marzo del 2020, un total de 26 pacientes asintomáticos y 58 sintomáticos fueron liberados del aislamiento en función de los resultados de RT-PCR del 13, 14 y 15 de marzo.

Comparación de los valores de Ct de RT-PCR para el SARS-CoV-2 entre los pacientes asintomáticos y sintomáticos

En total, se realizaron 1886 RT-PCR para SARS-CoV-2. Se realizaron 567 (30,1%) pruebas en pacientes asintomáticos y 1319 (69,9%) pruebas realizadas para sintomáticos (incluyendo pacientes pre-sintomáticos). El número medio (DE) de pruebas fue de 6,4 (2,1) por persona para los 89 pacientes asintomáticos y 6.2 (2.3) pruebas para los 214 pacientes sintomáticos. De acuerdo a las curvas de Kaplan-Meier, las proporción de participantes con una conversión negativa en los días 14 y 21 del diagnóstico fueron 33,7% y 75,2% en pacientes asintomáticos y 29,6% y 69,9% en sintomáticos (incluidos pre-sintomáticos), respectivamente (**Figura 1**). El tiempo medio (SE) desde el diagnóstico hasta la primera conversión negativa fue de 17 (1,07) días en pacientes asintomáticos y 19,5 (0,63) días en los pacientes sintomáticos (incluidos los pre-sintomáticos) ($p = 0,07$) (**figura 1**).

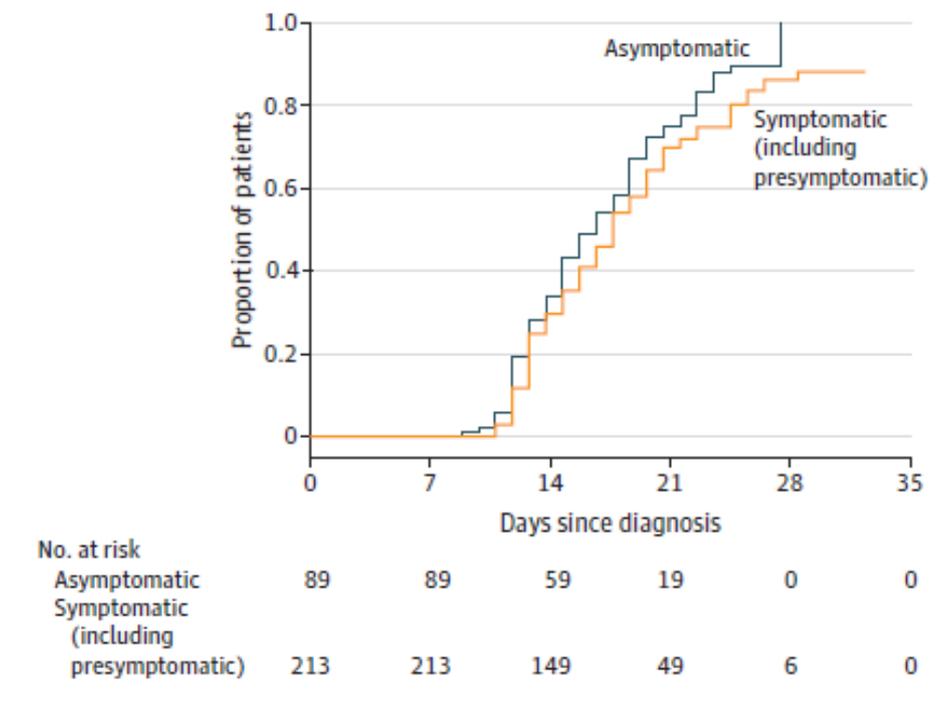
La dinámica del valor Ct del gen RdRp de muestras del tracto respiratorio superior mostró que las cargas virales de los pacientes con síntomas (incluidos los presintomáticos) tendían a disminuir más lentamente en el tiempo que la de los pacientes asintomáticos ($\beta = 0.040$ [SE, 0.020]; $P = .048$) (**Figura 2**). Como se muestra en la **Figura 3**, la dinámica del valor Ct de los genes env de las muestras de LRT mostró que las cargas virales de los pacientes asintomáticos tendieron disminuir más lentamente en el tiempo que los de pacientes sintomáticos (incluidos pre-sintomáticos) ($\beta = -0,065$ [SE, 0,023]; $P = 0,005$). No hubo diferencias significativas en los valores de Ct de de los genes env ($\beta = -0.012$ [SE, 0.035]; $P = .73$) y N ($\beta = 0.011$ [SE, 0.016]; $P = .49$), de muestras de tracto respiratorio superior y en los genes RdRp ($\beta = -0,015$ [SE, 0,026]; $P = .57$) y N ($\beta = -0.006$ [SE, 0.018]; $P = .75$), de muestras de tracto respiratorio inferior entre los pacientes asintomáticos y sintomáticos (incluido pre-sintomáticos).

Table. Baseline Characteristics of Patients Infected With Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2

Characteristic	Patients, No. (%)			P value
	Asymptomatic (n = 89)	Presymptomatic (n = 21)	Symptomatic (n = 193)	
Sex				
Female	55 (61.8)	10 (47.6)	136 (70.5)	.07 ^a
Male	34 (38.2)	11 (52.4)	57 (29.5)	
Age				
Median (IQR), y	22 (22.0-38.5)	28 (22.5-40.5)	24 (21.0-31.5)	.30 ^b
<20	8 (9.0)	2 (9.5)	13 (6.7)	
20-29	54 (60.7)	9 (42.9)	115 (59.6)	
30-39	11 (12.4)	5 (23.8)	20 (10.4)	
40-49	11 (12.4)	1 (4.8)	24 (12.4)	
≥50	5 (5.6)	4 (19.0)	21 (10.9)	
Comorbidity				
Hypertension	2 (2.2)	0	8 (4.1)	.77 ^b
Asthma	0	0	1 (0.5)	>.99 ^b
Cancer	0	0	1 (0.5)	>.99 ^b

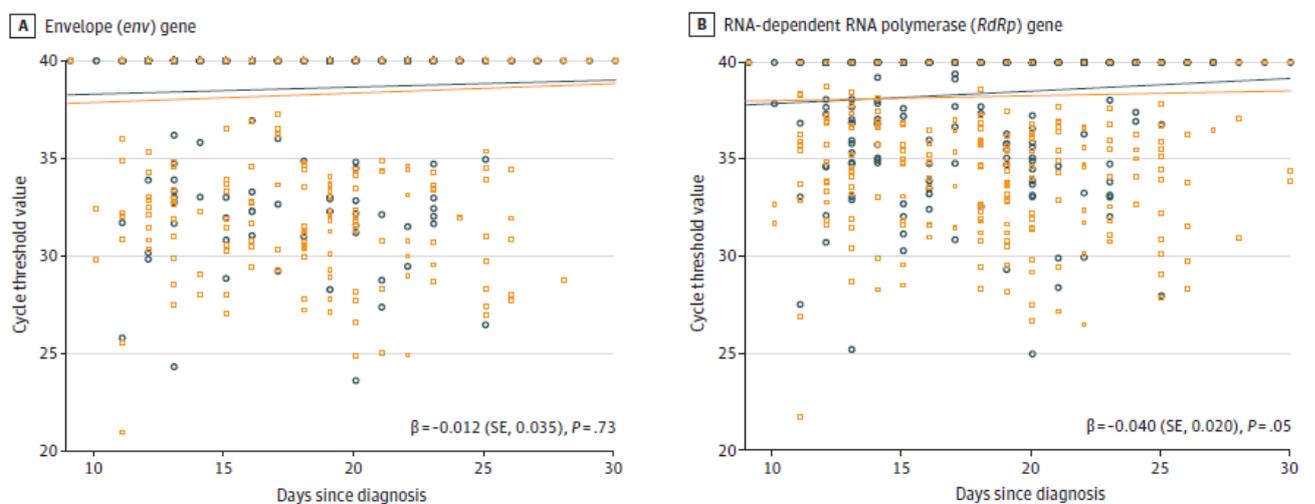
Abbreviation: IQR, interquartile range. a P value by χ^2 test. b P value by Fisher exact test

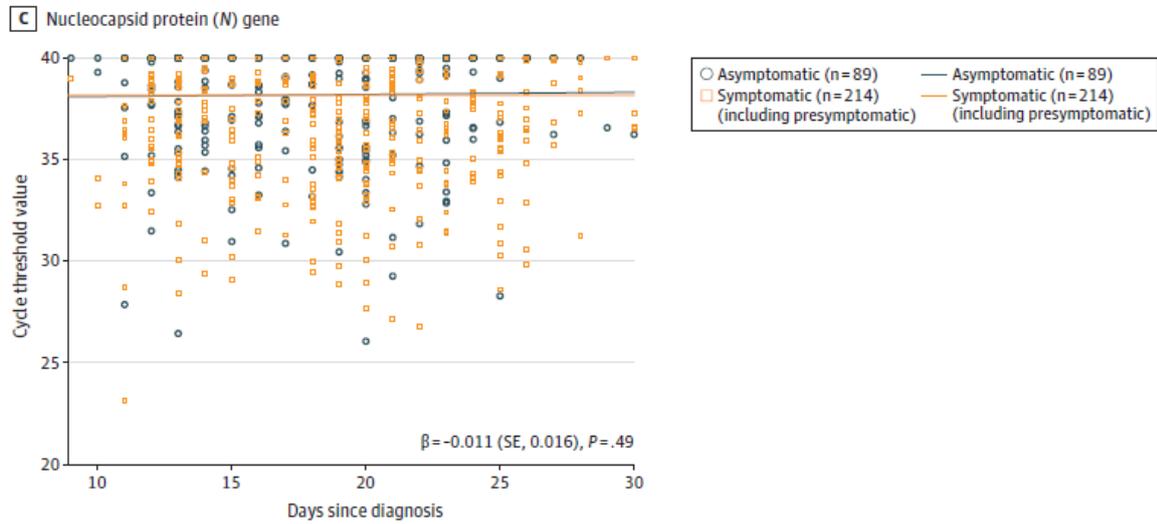
Figure 1. Proportion of Negative Conversion in Asymptomatic and Symptomatic (Including Presymptomatic) Patients



Curvas de Kaplan-Meier para la razón de conversión negativa entre pacientes asintomáticos y sintomáticos (incluidos los pre-sintomáticos). Días desde el diagnóstico significa desde el diagnóstico hasta la primera conversión negativa. No hubo diferencia entre los 2 grupos ($p = 0,07$).

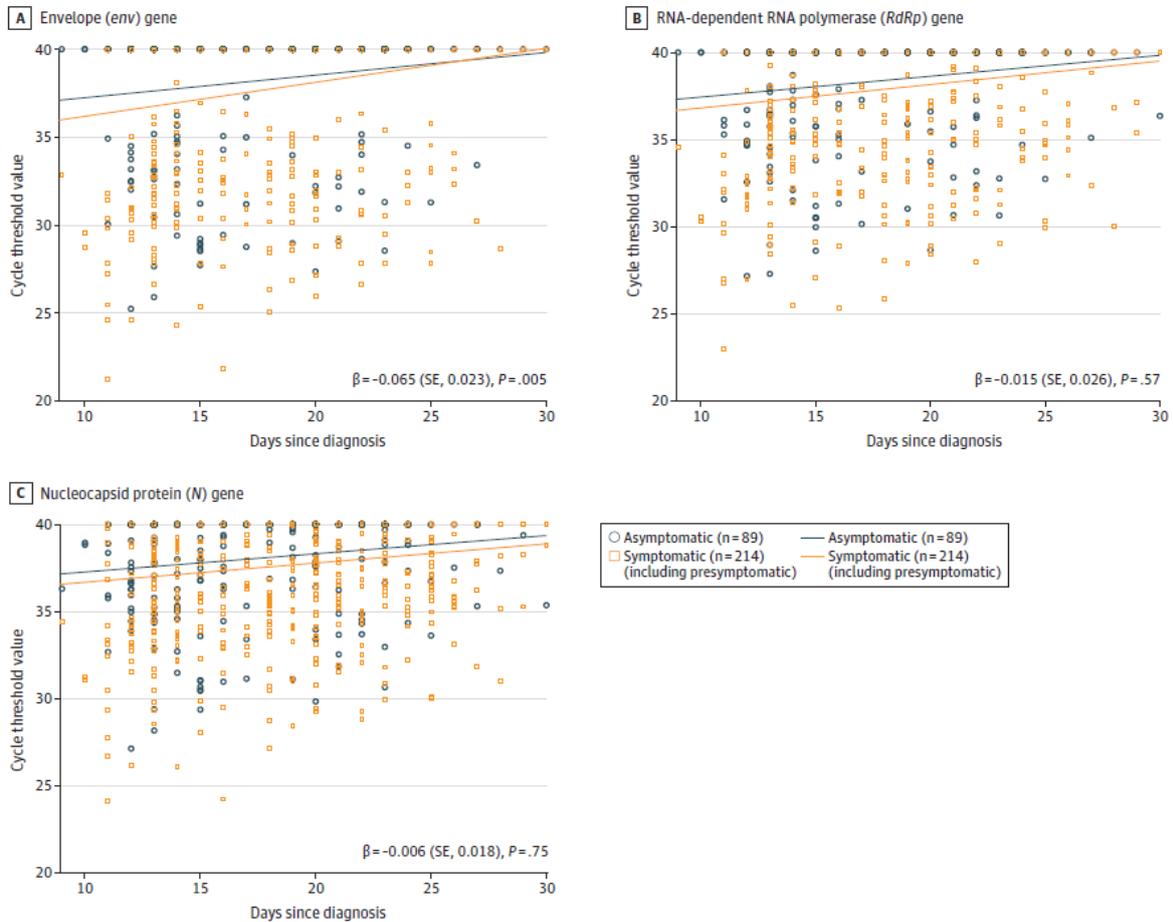
Figure 2. The Cycle Threshold Value Dynamics of *env*, *RdRp*, and *N* Genes From Upper Respiratory Tract Specimens





Diagramas de dispersión para la dinámica de los valores de umbral del ciclo entre pacientes asintomáticos y sintomáticos (incluidos pre-sintomáticos), para el gen env (A), gen RdRp (B) y gen N (C). El valor beta representa una pendiente de declive. Hay una diferencia significativa en el gen RdRp entre los 2 grupos ($\beta = 0.040$ [SE, 0.020]; $P = 0,048$).

Figure 3. The Cycle Threshold Value Dynamics of *env*, *RdRp*, and *N* Genes From Lower Respiratory Tract Specimens



Diagramas de dispersión para la dinámica de los valores umbral del ciclo entre pacientes asintomáticos y sintomáticos (incluidos pre-sintomáticos) para el gen *env* (A), el gen *RdRp* (B) y el gen *N* (C). El valor beta representa una pendiente de declive. Hay una diferencia significativa en el gen *env* entre los 2 grupos ($\beta = -0,065$ [SE, 0,023]; $P = 0,005$).

Discusión

Los hallazgos demuestran que el 80,9% (IC del 95%, 77,2% -84,6%) de los pacientes con SARS-CoV-2 que estaban asintomáticos en el momento de la detección con una RT-PCR positiva permanecieron asintomáticos durante una mediana (IQR) de 24 (20-26) días desde el diagnóstico, y los valores de Ct en pacientes asintomáticos fueron similares a los de pacientes sintomáticos. Un estudio previo en un centro de atención de pacientes crónicos demostró que el 56,5% de los pacientes con infecciones por SARS-CoV-2 estaban asintomáticos en el momento del diagnóstico, y el 23,1% permaneció asintomático durante 7 días.⁵ Como se estimó matemáticamente en los pacientes del crucero Diamond Princess, la proporción de casos asintomáticos fue del 17,9%.⁶ En un estudio poblacional en Islandia, 43% de 1221 participantes que dieron positivo fueron asintomáticos inicialmente, aunque

los síntomas se desarrollaron más tarde.⁷ En estos informes previos, los pacientes pre-sintomáticos también fueron considerados como casos asintomáticos porque el curso clínico de los casos asintomáticos no fue observado. En nuestro estudio, los pacientes asintomáticos que requerían estar aislados en CTC de acuerdo con la política del gobierno fueron observados completamente por el personal sanitario. Una importante implicación de nuestros hallazgos es que puede haber una desinformación acerca de los pacientes infectados utilizando la actual vigilancia y cribado basada en síntomas.

Poco se sabe acerca de la infectividad de los pacientes asintomáticos. Nuestros hallazgos, dado un informe reciente de la transmisión de SARS-CoV-2 de una persona asintomática a 4 miembros de la familia,⁸ ofrecen sin embargo plausibilidad biológica a tales informes de transmisión por personas asintomáticas. Un estudio previo⁹ que analiza un pequeño número de pacientes también informó que la carga viral de los pacientes asintomáticos con SARS-CoV-2 era tan alta como la de los pacientes sintomáticos. A pesar de que la alta carga viral que observamos en los pacientes asintomáticos plantea una diferencia en la posibilidad de riesgo de transmisión, nuestro estudio no fue diseñado para determinar esto. En este estudio, los valores de Ct del gen env de las muestras de tracto respiratorio inferior en los pacientes asintomáticos tendieron a disminuir más gradualmente que los de los pacientes con síntomas. Parece que la señal del objetivo env era aberrante debido a genomas fragmentados o degradados. El material genético de partículas virales muertas que quedan dentro de las células epiteliales pueden detectarse a medida que las células epiteliales se descaman.¹⁰

En un estudio reciente, la eliminación viral en esputo ha sido demostrada que se extiende más allá de la duración de los síntomas.¹¹ Es importante señalar que la detección de ARN viral no equivale a que el virus está presente y es transmisible. Para una mejor comprensión de la diseminación viral y la transmisibilidad potencial de la infección a partir de pacientes asintomáticos, se necesitan estudios epidemiológicos y experimentales grandes y rigurosos.

Limitaciones

Este estudio tiene limitaciones. Primero, es posible que los pacientes asintomáticos de nuestra cohorte no sean representativos de todos los pacientes asintomáticos de la comunidad, porque los casos falso negativos no se habrían incluido en nuestra muestra. Esto puede contrastar con los pacientes sintomáticos, donde la tasa de falsos negativos fue menor. Desafortunadamente, sin pruebas generalizadas en la comunidad con diferentes métodos, no tenemos forma de saber si este fue el caso. Segundo, no determinamos el papel de la diseminación viral molecular jugado por la transmisión de los pacientes asintomáticos. No se llevó a cabo una investigación epidemiológica con este objetivo, y no obtuvimos información sobre la fecha de exposición y aparición de síntomas antes del aislamiento. Sin embargo, si hubiéramos obtenido esta información, las inferencias aún serían inciertas debido a la dificultad para validar las exposiciones y determinar qué exposición tuvo una relación causal. En tercer lugar, nuestros hallazgos no se pueden generalizar a toda la población, porque nuestra cohorte estaba formada por pacientes jóvenes y sanos. Cuarto, no pudimos evaluar la calidad de las muestras esputo debido a problemas de bioseguridad y disponibilidad de equipos.

Conclusiones

En este estudio de cohorte de pacientes sintomáticos y asintomáticos con infección por SARS-CoV-2, que fueron aislados en un centro de tratamiento comunitario en Cheonan, República de Corea, los valores de Ct en los pacientes asintomáticos fueron similares a los de los pacientes sintomáticos. La diseminación molecular viral fue prolongada. Porque la transmisión por pacientes asintomáticos con SARS-CoV-2 puede ser un factor clave en la propagación comunitaria, la vigilancia basada en la población y el aislamiento de los pacientes asintomáticos puede ser necesaria.

Referencias

1. Zhu N, Zhang D, Wang W, et al; China Novel Coronavirus Investigating and Research Team. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med*. 2020;382(8):727-733. doi:[10.1056/NEJMoa2001017](https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001017)
2. World Health Organization. Coronavirus disease (COVID-19) pandemic. Accessed May 20, 2020. <https://www.who.int/emergencies/diseases/novelcoronavirus-2019>
3. Park PG, Kim CH, Heo Y, Kim TS, Park CW, Kim CH. Out-of-hospital cohort treatment of coronavirus disease 2019 patients with mild symptoms in Korea: an experience from a single community treatment center. *J Korean Med Sci*. 2020;35(13):e140. doi:[10.3346/jkms.2020.35.e140](https://doi.org/10.3346/jkms.2020.35.e140)
4. Li R, Pei S, Chen B, et al. Substantial undocumented infection facilitates the rapid dissemination of novel coronavirus (SARS-CoV-2). *Science*. 2020;368(6490):489-493. doi:[10.1126/science.abb3221](https://doi.org/10.1126/science.abb3221)
5. Kimball A, Hatfield KM, Arons M, et al; Public Health – Seattle & King County; CDC COVID-19 Investigation Team. Asymptomatic and presymptomatic SARS-CoV-2 infections in residents of a long-term care skilled nursing facility—King County, Washington, March 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2020;69(13):377-381. doi:[10.15585/mmwr.mm6913e1](https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6913e1)
6. Mizumoto K, Kagaya K, Zarebski A, Chowell G. Estimating the asymptomatic proportion of coronavirus disease 2019 (COVID-19) cases on board the Diamond Princess cruise ship, Yokohama, Japan, 2020. *Euro Surveill*. 2020;25(10). doi:[10.2807/1560-7917.ES.2020.25.10.2000180](https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.10.2000180)
7. Gudbjartsson DF, Helgason A, Jonsson H, et al. Spread of SARS-CoV-2 in the Icelandic population. *N Engl J Med*. 2020;382(24):2302-2315. doi:[10.1056/NEJMoa2006100](https://doi.org/10.1056/NEJMoa2006100)
8. Bai Y, Yao L, Wei T, et al. Presumed asymptomatic carrier transmission of COVID-19. *JAMA*. 2020;323(14):1406-1407. doi:[10.1001/jama.2020.2565](https://doi.org/10.1001/jama.2020.2565)
9. Zou L, Ruan F, Huang M, et al. SARS-CoV-2 viral load in upper respiratory specimens of infected patients. *N Engl J Med*. 2020;382(12):1177-1179. doi:[10.1056/NEJMc2001737](https://doi.org/10.1056/NEJMc2001737)
10. Rawlins EL, Hogan BL. Ciliated epithelial cell lifespan in the mouse trachea and lung. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2008;295(1):L231-L234. doi:[10.1152/ajplung.90209.2008](https://doi.org/10.1152/ajplung.90209.2008)
11. Wolfel R, Corman VM, Guggemos W, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*. 2020;581(7809):465-469. doi:[10.1038/s41586-020-2196-x](https://doi.org/10.1038/s41586-020-2196-x) **GCP**

