



COVID-19 Task Force SV

Boletín informativo Número 26, 27 de Septiembre 2020.

CONTENIDOS.

- Estrategias de diagnóstico de COVID-19: Pare I. Estudios confirmatorios de laboratorio.

Borrador preliminar, Primera parte del Capítulo 4 del Primer Volumen del futuro libro sobre COVID-19 del Task Force COVID-19 El Salvador.

Colaboración: Dr. Hugo Villarroel-Ábrego, médico internista, cardiólogo y ecocardiografista.

ESTRATEGIAS DE DIAGNÓSTICO DE COVID-19.

PARTE I: ESTUDIOS CONFIRMATORIOS DE LABORATORIO.

Para efecto de registro estadístico, vigilancia y comunicación entre científicos se debe estandarizar la terminología relacionada con las probabilidades de diagnóstico de COVID-19. Al unificarse criterios se podrá hablar un lenguaje común para todo el personal de salud y autoridades civiles interesadas en el manejo de pacientes y planificación de estrategias de prevención, contención y mitigación de la pandemia. Definir el caso como confirmado requerirá de un estudio de laboratorio que confirme que el paciente alberga material genético del SARS-CoV-2, proteínas específicas del virus, o que ha fabricado anticuerpos neutralizantes que alcancen un umbral detectable. Estos temas serán desarrollados en el presente capítulo.

1. DEFINICIÓN DE CASO.

- 1.1 Caso confirmado:** Un caso clínico de COVID-19 se considera confirmado cuando se dispone de un estudio de laboratorio positivo para infección para SARS-CoV-2, independientemente de los signos y síntomas clínicos¹.

Para fines operativos existen otros niveles de definición de casos:

1.2 Caso sospechoso¹: Persona que cumple los siguientes criterios clínicos **Y** epidemiológicos (ambos):

- Criterios clínicos: Inicio agudo de fiebre **Y** tos;

O

Inicio agudo de **CUALQUIERA de TRES O MÁS** de los siguientes signos o síntomas: fiebre, tos, debilidad general/fatiga, cefalea, mialgia, odinofagia, coriza, disnea, anorexia/náuseas/vómitos, diarrea, alteración del estado mental.

Y

- Criterios epidemiológicos:

– Residir o trabajar en un área con alto riesgo de transmisión del virus dentro de los 14 días antes del inicio de los síntomas: por ejemplo, residencias de ancianos y lugares de acogida humanitaria, como campamentos y entornos similares a campamentos para personas desplazadas;

O

– Residir o viajar a un área con transmisión comunitaria en cualquier momento dentro de los 14 días anteriores al inicio de los síntomas;

O

– Trabajar en un entorno de salud, incluso dentro de los establecimientos de salud y dentro de los hogares, en cualquier momento dentro de los 14 días anteriores al inicio de los síntomas.

1.3 Caso probable¹:

- Paciente que cumple con los criterios clínicos de caso sospechoso **Y** que es un contacto de un caso probable o confirmado, o está vinculado epidemiológicamente a un conglomerado de casos que ha tenido al menos un caso confirmado identificado dentro de ese conglomerado.
- Un caso sospechoso (descrito anteriormente) con imágenes de tórax que muestran hallazgos radiológicos sugestivos por COVID-19:
 - RX tórax: Opacidades nebulosas, de morfología a menudo redondeadas, con distribución pulmonar periférica e inferior.
 - Tomografía computarizada de tórax: múltiples opacidades bilaterales en vidrio esmerilado, a menudo de morfología redondeadas, con distribución pulmonar periférica e inferior.
 - Ecografía pulmonar: líneas pleurales engrosadas, líneas B (multifocales, discretas o confluentes), consolidación con o sin broncograma aéreo.
- Una persona con inicio reciente de anosmia (pérdida del olfato) o ageusia (pérdida del gusto), en ausencia de cualquier otra causa identificada.
- Muerte no explicada de otra manera, en un adulto con dificultad respiratoria anterior a la muerte **Y** que fue un contacto de un caso probable o caso confirmado, **O** vinculado epidemiológicamente a un conglomerado de casos que ha tenido al menos un caso confirmado identificado dentro de ese grupo.

2. Estudios de confirmación de infección por SARS-COV-2.

Al igual que otras patologías virales, el estándar de oro para el diagnóstico de COVID-19 sería la identificación precisa del agente infeccioso, en este caso puede hacerse visualizando al SARS-CoV-2 con microscopía electrónica, o identificado inclusiones virales intracelulares con microscopía óptica; para hacer estudios de replicación in vitro se requiere de cultivos celulares. Estos métodos requieren de tecnología que usualmente está disponible tan solo en centros de investigación. En los laboratorios comerciales los ensayos inmunoenzimáticos o de aglutinación están disponibles para la detección de antígenos virales, y los tests de amplificación de ácidos nucleicos para detección de material genético viral².

2.1 Estudios moleculares: Transcriptasa reversa de la reacción de polimerasa en cadena en tiempo real (RT-PCR).

El test RT-PCR para COVID-19 en tiempo real es una prueba para la detección cuantitativa o cualitativa de ácidos nucleicos de SARS-CoV-2 a partir de especímenes de vías respiratorias superiores o inferiores de individuos sospechosos de COVID-19 o de cualquier individuo, sintomático o no, en el que se desee descartar la infección. Los especímenes pueden ser hisopados de mucosas nasofaríngea u orofaríngea, esputo, aspirado bronquial, lavado broncoalveolar o aspirado/lavado nasofaríngeo.

El ácido ribonucleico (ARN) del SARS-CoV-2 RNA es por lo general detectable en los especímenes respiratorios durante la fase activa de la enfermedad. Un resultado positivo indica la presencia de ARN del virus, debe correlacionarse con la historia clínica del paciente y podría requerirse de otra información diagnóstica para cada caso individual. Debe recordarse que un resultado positivo no descarta una infección o coinfección bacteriana o por otros virus; de hecho, el agente detectado podría no tener ninguna relación con los síntomas que el paciente pueda tener³. La contraparte es que un resultado negativo no excluye una infección por SARS-CoV-2 y no puede utilizarse como fundamento único para tomar decisiones de manejo; un resultado negativo debe correlacionarse también con el historial clínico, estudios de imágenes y el contexto epidemiológico al momento del test.

La información genética fluye desde el ADN (ácido desoxirribonucleico) al ARNm (ácido ribonucleico mensajero) a través del proceso de transcripción, la llamada expresión génica celular; el ARNm se encarga entonces de la traducción, es decir, de la síntesis de proteínas. Las técnicas de reacción en cadena de la polimerasa están diseñadas para la detección de fragmentos de ADN (ácido desoxirribonucleico), pero SARS-CoV-2 es un virus ARN, por lo que se requiere de la acción de la enzima transcriptasa reversa para sintetizar ADNc (ADN complementario) a partir del ARN viral, que podría estar presente en cantidades minúsculas. Esta es la acción contraria a la de las transcriptasas, que catalizan el proceso de síntesis de ARN a partir de ADN). Al amplificarse las moléculas de ADN obtenidas a partir del ARN viral (por la acción de polimerasa en cadena) será posible la detección indirecta del genoma viral. Este proceso contempla varias etapas⁴ (Figura 1):

- Etapa 1: Obtención, aislamiento y purificación del ARNm contenido en la célula, por lo general empleando solventes orgánicos.
- Etapa 2: Retrotranscripción. El ARNm servirá como plantilla para la acción de la transcriptasa reversa, que sintetizará moléculas de ADNc.
- Etapa 3: Amplificación del ADNc. Se emplean oligonucleótidos específicos (*primers* forward y reverse) que actuarán como cebadores de la acción de la polimerasa, amplificando el ADNc de aquellos genes cuya expresión interese analizar, por lo general centenares de miles de veces.

Los genes E (*screening* de primera línea) y RdRp (*screening* confirmatorio) han sido los más comúnmente usados para detectar al SARS-CoV-2, ambos con una alta sensibilidad analítica (límite técnico de detección de 3.2 y 3.6 copias por reacción, respectivamente). La detección del gene N tiene menor sensibilidad analítica (8.3 copias por reacción)⁵. Se ha estimado una sensibilidad global de 70% y una especificidad de 95%²; Kim et al⁶ 50 valoraron 19 estudios e identificaron sensibilidad de 89% (81-94%) con valor predictivo positivo en rango de 47.3-98.3% y un valor predictivo negativo entre 93.4-99.9%.

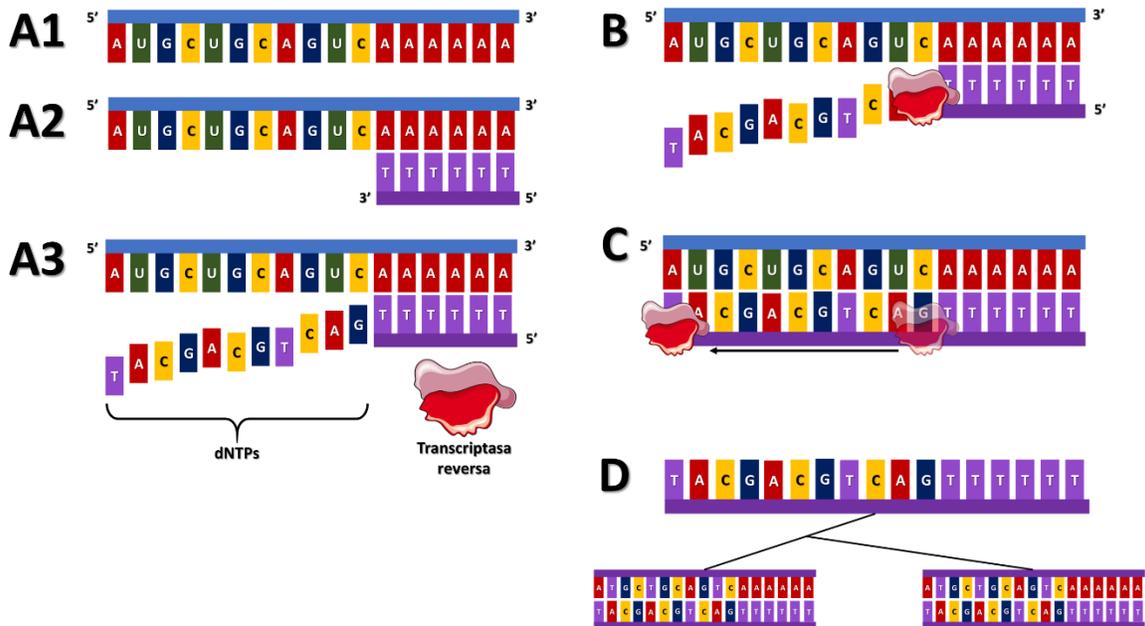


Figura 1.

A1: ARN viral, finaliza con cola de nucleótidos de adenina (A). **A2:** Un *primer* (tira de ADN con nucleótidos de timidina [T]) se acopla a la cola de poliadenina. **A3:** Transcriptasa reversa y nucleósidos trifosfato (dNTPs). **B:** La transcriptasa reversa incorpora nucleósidos al ADN complementario (c). **C:** Plantilla de ADNc complementario finalizada. **D:** La plantilla de ADNc se replica las veces necesarias para facilitar su detección. Modificado de Lukesh Thimmana, *Agri Biotech Foundation*.

En un metaanálisis de van Kasteren et al se compararon la analítica básica y el desempeño clínico de diferentes kits de RT-PCR de siete diferentes empresas (Altona Diagnostics, BGI, CerTest Biotec, KH Medical, PrimerDesign, R-Biopharm AG, and Seegene); la eficiencia fue mayor de 96% para todos los ensayos y ninguno mostró reactividad cruzada con otros coronavirus respiratorios, excepto para el gene de SARS-CoV-1⁷.

Factores que pueden limitar la capacidad diagnóstica del test de RT-PCR:

- Los estudios de RT-PCR deben ser practicados por personal de laboratorio clínico instruido y con el entrenamiento apropiado en técnicas de RT-PCR en tiempo real y procedimientos de diagnóstico *in vitro*.
- Técnica inapropiada para coleccionar la muestra, por lo que la carga viral recolectada podría ser insuficiente.
- Si se coleccionan las muestras antes que el virus haya tenido la posibilidad de replicarse o después que haya sido depurado, el RT-PCR resultará negativo aunque el paciente haya estado infectado. Se ha reportado que la mediana de probabilidad de un resultado falso negativo se reduce desde 100% en el día 1 a 67% el día 4; al inicio de síntomas la probabilidad fue de 38%, llegando a 20% 3 días después⁸.
- Un almacenamiento inadecuado o muy prolongado de las muestras puede causar degradación del ARN viral y llevar a resultados erróneos⁹.
- Diseño inadecuado puede producir resultados imprecisos, como ocurrió con millones de tests producidos en China entre marzo y mayo 2020¹⁰.
- El test toma varias horas para dar resultados, hay escasez de kits a nivel mundial y es muy costoso para su aplicación masiva.

Conclusión: A pesar de sus limitaciones la RT-PCR resulta ser el verdadero estándar de oro en el mundo real para diagnóstico de COVID-19, especialmente si es coleccionado de muestras respiratorias⁵.

2.2 Detección de antígenos de SARS-CoV-2.

Los métodos directos para el diagnóstico de COVID-19 también incluyen un inmunoensayo ligado a enzimas de doble anticuerpo que identifican la nucleoproteína (NP) del SARS-CoV-2 mediante una microplaca prerrevestida con anticuerpos específicos contra el NP del SRAS-CoV-2 y el uso de un anticuerpo secundario marcado con peroxidasa (HRP) contra la misma proteína. Este método directo es simple, rápido y no requiere personal capacitado ni costosos instrumentos de laboratorio⁶. Sin embargo, en un metaanálisis de Castro¹¹ la sensibilidad de esta prueba osciló entre el 70% y el 86%, mientras que la especificidad osciló entre el 95% y el 97%, por lo que un único resultado negativo de la prueba no puede descartar la infección por SARS-CoV-2.

Un test rápido (minutos para procesamiento y reporte) basado en la detección de antígenos se realiza tomando muestras nasofaríngeas u orofaríngeas con un hisopo. Se espera un resultado positivo desde el segundo día de infección, así que está indicado desde el primer

día de síntomas; su sensibilidad y especificidad son discretamente menores a las de RT-PCR: 70-86% y 95-97%, respectivamente⁶; su costo es también sensiblemente menor. La indicación más importante a la fecha es determinar de manera directa en el punto mismo de atención (*point of care*, POC) la presencia de infecciones cuando no hay disponibilidad de RT-PCR, o si se requiere de una respuesta inmediata: antes de procedimientos médicos, asistencia presencial a eventos y para viajeros internacionales, por ejemplo.

El 9 de mayo 2020 la *Food and Drugs Administration* (FDA) de los Estados Unidos de América dio su primera aprobación para uso urgente (EUA) de un test rápido, basado en detección de antígenos para la nucleocápside viral (Sofia 2 SARS Antigen FIA); el 20 de agosto la misma institución aprobó un test rápido con un muy alto de concordancia con RT-PCR, LumiraDx (97.6%). La tendencia es que estén pronto disponibles para consumo directo del público kits tan baratos como \$5.00 (dólares de Estados Unidos de América), como el Binax NOW COVID-19 Ag CARD de Abbott Laboratories, un inmunoensayo de flujo lateral con resultados en 15 minutos, aprobado para uso POC por la FDA el 26 de agosto 2020¹²; estarían disponibles en farmacias, supermercados y aeropuertos, solo para citar algunos ejemplos. Debe tenerse en cuenta que aunque se les puede dar un uso domiciliario, siempre se requiere que un profesional en salud tome las muestras, con el debido nivel de protección, por el potencial riesgo de contagio que implica exponerse a secreciones respiratorias de una persona infectada.

Conclusión: Aunque vitales y razonablemente confiables para un abordaje POC en pacientes sospechosos de COVID-19, el inconveniente más relevante de los tests de antígenos, además de tener un poco menos de sensibilidad, es que no puede distinguirse entre infecciones por SARS-CoV y SARS-CoV-2, aunque este detalle no es crítico en este momento, por no haber brotes de SARS en el planeta. En caso de respuesta negativa podría ser necesario, si persiste sospecha de COVID-19, hacer un test RT-PCR.

2.3 Anticuerpos anti SARS-CoV-2.

Desde que la FDA autorizó el uso de emergencia (EUA) de kits de diagnóstico serológico para COVID-19 por detección indirecta de anticuerpos (Ac)¹³, múltiples tests han entrado en el mercado, con variados rangos de sensibilidad y especificidad; algunos de estos tests ya han sido, sin embargo retirados por las autoridades regulatorias. En este capítulo no discutiremos el rol protector/neutralizante de estos anticuerpos sino su mérito como herramienta de diagnóstico.

La producción de Ac tipo inmunoglobulina G (IgG) e inmunoglobulina M (IgM) anti SARS-CoV-2, en especial contra la proteína S de sus “*spikes*”, es una respuesta relativamente tardía, como mínimo después de pasada la primera semana de enfermedad para IgM y algunos días más para un umbral detectable de IgG¹⁴, por lo que no es útil para el diagnóstico de la fase I sintomática, período en que se requiere de test moleculares como la RT-PCR o la determinación de antígenos virales.

La Figura 3 muestra las curvas de títulos de Ac/tiempo en pacientes con COVID-19.

Hay preguntas que merecen ser formuladas:

- ¿Quién requiere de un test de anticuerpos?
- ¿Cuándo?
- ¿Cómo interpretarlos a la luz del momento clínico?
- ¿Son anticuerpos protectores?
- ¿Cuánto dura esta respuesta?
- ¿Tiene valor epidemiológico conocer la prevalencia de pacientes seropositivos?

En primer lugar debe aclararse que los estudios de Ac deben ser analizados a la luz de la prevalencia de COVID-19 en una región y escenario de exposición: Esto modifica el valor predictivo del test. Un buen test debe tener alta sensibilidad y especificidad y es más confiable cuando el porcentaje de la población que se estima enferma es superior a un 50%¹⁴.

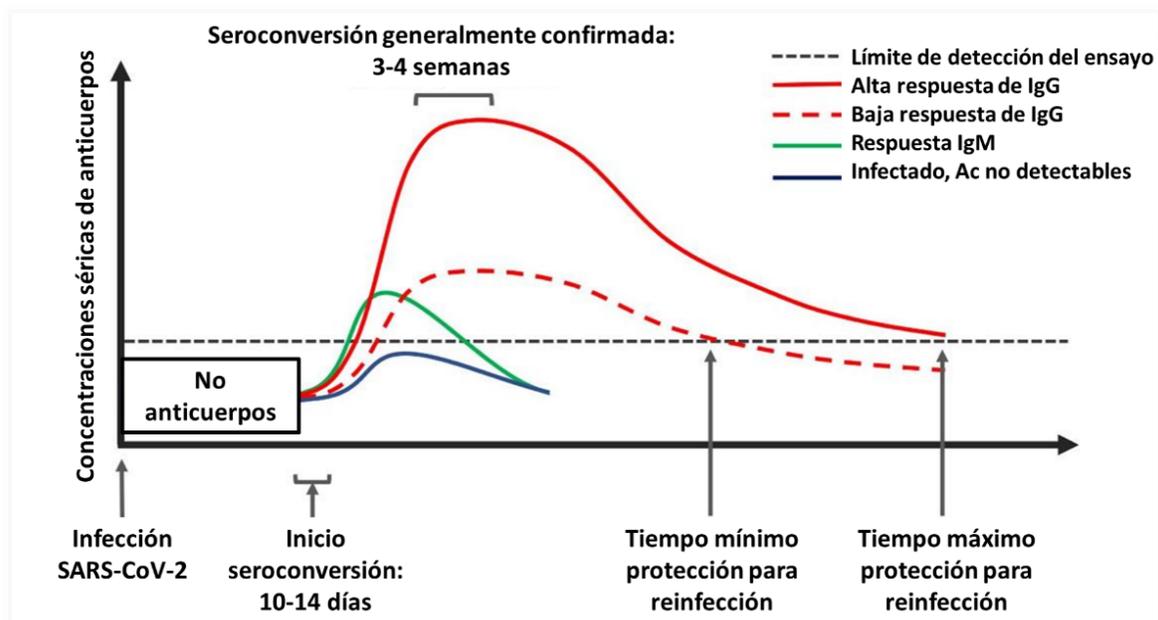


Figura 3. Seroconversión vs tiempo en COVID-19. La seroconversión arranca entre 10-14 días en la mayoría de pacientes; se eleva en inicio IgM, seguido, dos o tres días después, por un ascenso lento de IgG.

Un metaanálisis Cochrane¹⁴ incluyó 57 publicaciones, correspondientes a 54 estudios, evaluando 89 kits de anticuerpos diferentes; se transcriben, literales, los comentarios: Los resultados agrupados para IgG, IgM, IgA, anticuerpos totales y combinación IgG/IgM mostraron baja sensibilidad durante la primera semana desde el inicio de los síntomas (sensibilidades inferiores al 30.1% para todos ellos), aumentando en la segunda semana y alcanzando sus valores más altos en la tercera semana. La combinación de IgG/IgM tuvo

una sensibilidad del 30,1% (intervalo de confianza [IC] del 95%: 21,4 a 40,7) en el período de 1 a 7 días, 72,2% (IC del 95%: 63,5 a 79,5) entre los 8 y 14 días, 91,4% (IC del 95%: 87,0 a 94,4) entre los 15 y 21 días. Las estimaciones de precisión diagnóstica más allá de las tres semanas son más imprecisas y menos fiables, dado que se basan en tamaños de muestra más pequeños y menos estudios. Entre los 21 y 35 días, las sensibilidades metaanalizadas para IgG/IgM fueron del 96,0% (IC del 95%: 90,6 a 98,3).

Conclusión #1:

- No tiene sentido indicar anticuerpos antes de 10-14 días del inicio de síntomas, quizá idealmente al final de la segunda semana. Hay casos de positividad de IgM a 7 días, pero en enfermedad temprana el diagnóstico se hace con RT-PCR o antígenos. Si se considera la posibilidad de un falso negativo puede considerarse valorar presencia de Ac.

Hay pacientes que dan positivo a RT-PCR cuando se hace estudio de nexos epidemiológicos, sin síntomas de enfermedad; muchos de estos pacientes (hasta un 18%, según algunas series¹⁵) no elevan anticuerpos aún a dos meses de haber sido diagnosticados.

Conclusión #2:

- Si se dispone de RT-PCR positivo no se necesita un estudio confirmatorio de anticuerpos, excepto si se desea valorar respuesta hiperinmune para hacer donación de plasma.

Si los síntomas ya duran lo suficiente como para esperar seroconversión, cuando no hay RT-PCR previo, se espera que a esa altura del cuadro el test molecular o antigénico pueda ser ya negativo; los Ac permiten definir si el paciente ha cursado con la enfermedad, con o sin síntomas, en especial si se sospecha que el paciente tiene neumonía y no hay diagnóstico confirmatorio. Estos tests dan respuestas en pocos minutos y se puede saber de inmediato si un paciente está aún en fase aguda (IgM positiva, IgG negativa/positiva) o si ya entró en recuperación (IgM negativo, IgG positivo).

Conclusión #3:

- Los anticuerpos pueden confirmar COVID-19 en pacientes sospechosos sin test molecular que no han resuelto su cuadro clínico a 10 días de evolución. No debe olvidarse la probabilidad de resultados falsos positivos, no despreciable para algunos kits, por reacción cruzada con otros virus¹⁶.

Vislumbramos dos indicaciones adicionales importantes para el estudio de Ac:

- Detección (cuantitativa) de pacientes con superproducción de Ac, cuyo plasma sería hiperinmune e ideal para transfundir a pacientes graves; y
- Estudios de prevalencia epidemiológica al final de la pandemia.

En la Tabla 1 se transcribe la postura de la FDA sobre las utilidades y limitaciones de los tests RT-PCR, antígenos y anticuerpos para el diagnóstico de infección COVID-19¹⁷.

Tabla 1

Alcances y limitaciones de los tres tipos de tests para la confirmación de casos de COVID-19 por laboratorio.			
	RT-PCR	Antígenos	Anticuerpos
Método toma de muestra	Hisopado mucosas	Hisopado mucosas	Sangre capilar Plasma Suero
Tiempo para resultados	Horas/días	<1 hora	<1 hora
Pruebas complementarias	No necesario	Posiblemente RT-PCR	Segundo test anticuerpos
Significado de resultados	Infección activa	Infección activa	Infección previa (IgG) Infección en curso (IgM)
Limitaciones	Infección previa	Descarte definitivo Menor sensibilidad	Descarte definitivo No útiles en fase temprana
Costo	Elevado	Muy bajo/intermedio	Intermedio
Modificado de https://www.fda.gov/media/138239/download (julio 2020).			

La interpretación global de los tests en conjunción con los resultados de RT-PCR se resume en la Tabla 2.

Tabla 2.

Interpretación conjunta de tests de RT-PCR y anticuerpos IgM e IgG en COVID-19			
RT-PCR	IgM	IgG	Análisis
+	-	-	<ul style="list-style-type: none"> • Enfermedad presintomática • Enfermedad < 7-10 días evolución • Paciente enfermo asintomático sin respuesta de anticuerpos
+	+	-	Enfermedad temprana, 7-10 días evolución
+	+	+	Enfermedad en Fase II, >10 días evolución
+	-	+	Enfermedad en fase III o resuelta
-	+	-	<ul style="list-style-type: none"> • Estudio molecular falso negativo, enfermedad temprana • Estudio de anticuerpos falso positivo
-	+	+	<ul style="list-style-type: none"> • Estudio molecular falso negativo, enfermedad en fase II • Estudio de anticuerpos falso positivo
-	-	+	<ul style="list-style-type: none"> • Estudio molecular falso negativo, enfermedad resuelta • Estudio de anticuerpos falso positivo
-	-	-	No infección por SARS-CoV-2

Diseñada por Dr. Hugo Villarroel A.

Referencias.

1. [https://www.paho.org/es/temas/coronavirus/brote-enfermedad-por-coronavirus-covid-19/definiciones-casos-para-vigilancia#:~:text=Defunci%C3%B3n%20por%20COVID%2D19,\(por%20ejemplo%2C%20trauma\).](https://www.paho.org/es/temas/coronavirus/brote-enfermedad-por-coronavirus-covid-19/definiciones-casos-para-vigilancia#:~:text=Defunci%C3%B3n%20por%20COVID%2D19,(por%20ejemplo%2C%20trauma).)
2. Goudouris ES. Laboratory diagnosis of COVID-19. J Pediatr (Rio J). 2020 Aug 31:S0021-7557(20)30199-6. doi: 10.1016/j.jped.2020.08.001. Epub ahead of print. PMID: 32882235; PMCID: PMC7456621.
3. <https://www.fda.gov/media/136151/download>

4. [https://www.ucm.es/data/cont/docs/261-2019-03-22-pr%C3%A1ctica%20DISE%C3%91O%20EXPERIMENTAL%20Y%20AN%C3%81LISIS%20DE%20DATOS%20EN%20LA%20T%C3%89CNICA%20DE%20LA%20RT%20qPCR%20\(1\).pdf](https://www.ucm.es/data/cont/docs/261-2019-03-22-pr%C3%A1ctica%20DISE%C3%91O%20EXPERIMENTAL%20Y%20AN%C3%81LISIS%20DE%20DATOS%20EN%20LA%20T%C3%89CNICA%20DE%20LA%20RT%20qPCR%20(1).pdf)
5. Kim H, Hong H, Yoon SH. Diagnostic Performance of CT and reverse transcriptase-polymerase chain reaction for Coronavirus Disease 2019: a meta-analysis [published online ahead of print, 2020 Apr 17]. *Radiology*. 2020;201343. doi:10.1148/radiol.2020201343
6. Böger B, Fachi MM, Vilhena RO, Cobre AF, Tonin FS, Pontarolo R. Systematic review with meta-analysis of the accuracy of diagnostic tests for COVID-19. *Am J Infect Control*. 2020 Jul 10:S0196-6553(20)30693-3. doi: 10.1016/j.ajic.2020.07.011. Epub ahead of print. PMID: 32659413; PMCID: PMC7350782.
7. van Kasteren PB, van der Veer B, van den Brink S, Wijsman L, de Jonge J, van den Brandt A, Molenkamp R, Reusken CBEM, Meijer A. Comparison of seven commercial RT-PCR diagnostic kits for COVID-19. *J Clin Virol*. 2020 Jul;128:104412. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104412. Epub 2020 May 8. PMID: 32416600; PMCID: PMC7206434.
8. Kucirka LM, Lauer SA, Laeyendecker O, Boon D, Lessler J (August 2020). "Variation in False-Negative Rate of Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction-Based SARS-CoV-2 Tests by Time Since Exposure". *Annals of Internal Medicine*. 173 (4): 262–267. doi:10.7326/M20-1495. PMC 7240870. PMID 32422057.
9. Russo A, Minichini C, Starace M, Astorri R, Calò F, Coppola N; Vanvitelli COVID-19 group. Current Status of Laboratory Diagnosis for COVID-19: A Narrative Review. *Infect Drug Resist*. 2020 Aug 3;13:2657-2665. doi: 10.2147/IDR.S264020. PMID: 32801804; PMCID: PMC7413717.
10. <https://elpais.com/sociedad/2020-03-25/los-test-rapidos-de-coronavirus-comprados-en-china-no-funcionan.html>
11. Castro R, Luz PM, Wakimoto MD, Veloso VG, Grinsztejn B, Perazzo H. COVID-19: a meta-analysis of diagnostic test accuracy of commercial assays registered in Brazil [published online ahead of print, 2020 Apr 18]. *Braz J Infect Dis*. 2020; S14138670(20):530029. doi:10.1016/j.bjid.2020.04.003
12. <https://www.fda.gov/media/141570/download>
13. <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/actualizacion-sobre-el-coronavirus-covid-19-la-fda-autoriza-las-primeras-pruebas-que-estiman-los>
14. Deeks JJ, Dinnes J, Takwoingi Y, Davenport C, Spijker R, Taylor-Phillips S, Adriano A, Beese S, Dretzke J, Ferrante di Ruffano L, Harris IM, Price MJ, Dittrich S, Emperador D, Hooft L, Leeflang MMG, Van den Bruel A. Antibody tests for identification of current and past infection with SARS-CoV-2. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2020, Issue 6. Art. No.: CD013652. DOI: 10.1002/14651858.CD013652.
15. Nikolai LA, Meyer CG, Kreamsner PG, Velavan TP. Asymptomatic SARS Coronavirus 2 infection: Invisible yet invincible [published online ahead of print, 2020 Sep 3]. *Int J Infect Dis*. 2020;S1201-9712(20)30706-2. doi:10.1016/j.ijid.2020.08.076
16. Winter AK, Hegde ST. The important role of serology for COVID-19 control. *Lancet Infect Dis*. 2020 Jul;20(7):758-759. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30322-4. Epub 2020 Apr 21. PMID: 32330441; PMCID: PMC7173803.
17. <https://www.fda.gov/media/138239/download>