

Potencial utilidad del CT como marcador de persistencia de PCR positiva en pacientes con COVID-19

AUTORES

José María López-Pintor (1)
 Óscar Herráez-Carrera (2)
 Jorge Gaitán Pitera (1)
 Javier Sánchez-López (1)
 Inmaculada Bautista-Serrano (1)
 Fátima Arribas-Pérez (2)
 Jean Carlos Méndez-González (1)
 María Huertas-Vaquero (1)
 Ángel Arias-Arias (3)
 María Ángeles Asencio-Egea (1)

CONTRIBUCIONES DE AUTORÍA

CONCEPTUALIZACIÓN

JM López-Pintor
 O Herráez-Carrera
 A Arias-Arias
 MA Asencio-Egea

TRATAMIENTO DE DATOS

JM López-Pintor
 O Herráez-Carrera
 A Arias-Arias

ANÁLISIS FORMAL

JM López-Pintor
 O Herráez-Carrera
 MA Asencio-Egea

METODOLOGÍA

JM López-Pintor
 A Arias-Arias
 MA Asencio-Egea
 J Sánchez-López
 I Bautista-Serrano

F Arribas-Pérez
 J Gaitán Pitera
 JC Méndez-González
 M Huertas-Vaquero

VALIDACIÓN Y ESCRITURA

JM López-Pintor
 MA Asencio-Egea

VALIDACIÓN

O Herráez-Carrera
 J Sánchez-López
 I Bautista-Serrano
 F Arribas-Pérez
 J Gaitán Pitera
 JC Méndez-González
 M Huertas-Vaquero

SOFTWARE

O Herráez-Carrera
 A Arias-Arias

ADMINISTRACIÓN DEL PROYECTO

J Sánchez-López
 I Bautista-Serrano
 F Arribas-Pérez
 J Gaitán Pitera
 JC Méndez-González
 M Huertas-Vaquero

RECURSOS

J Sánchez-López
 I Bautista-Serrano
 F Arribas-Pérez
 J Gaitán Pitera
 JC Méndez-González
 M Huertas-Vaquero
 MA Asencio-Egea

SUPERVISIÓN

A Arias-Arias
 MA Asencio-Egea

FILIACIONES

- (1) Servicio de Microbiología, Hospital General La Mancha Centro. Alcázar de San Juan (Ciudad Real), España.
- (2) Servicio de Análisis Clínicos, Hospital General La Mancha Centro. Alcázar de San Juan (Ciudad Real), España.
- (3) Servicio de Investigación, Formación y Desarrollo (IDF), Hospital General La Mancha Centro. Alcázar de San Juan (Ciudad Real), España.

RESUMEN

FUNDAMENTOS // Uno de los problemas asociados al SARS-CoV-2 es su persistencia en el tracto nasofaríngeo. La existencia de marcadores que ayuden a predecir este fenómeno podría ser útil en el manejo del paciente. El objetivo de este trabajo fue determinar la relación entre el valor CT (umbral de ciclo) de la PCR inicial de pacientes con COVID-19 y la persistencia de la infección.

MÉTODOS // Se realizó un estudio observacional retrospectivo de pacientes con PCR positiva para SARS-CoV-2 atendidos en las Urgencias de un hospital general. Se recogieron datos sobre sintomatología compatible y patrón radiológico de cada paciente, así como el CT obtenido en la PCR con cada equipo utilizado. El grupo control (GO) incluyó pacientes con una PCR positiva seguida de dos negativas (patrón P-N-N), mientras que el grupo problema (GI) incluyó pacientes con al menos tres PCR positivas consecutivas (patrón P-P-P). Se descartaron las infecciones crónicas, considerando únicamente a pacientes con serología negativa, y solo se incluyeron aquellos cuyas tres PCR estuvieron separadas un mínimo de cinco días y un máximo de veinte. La comparación entre los grupos de estudio se realizó mediante el test t-student para variables cuantitativas y el test de χ^2 para variables cualitativas.

RESULTADOS // La media del valor CT fue de 30,8 en GO y 21,5 en GI ($p<0,001$). GO reportó CT superiores a GI, independientemente de la sintomatología, el patrón radiológico o el equipo de PCR utilizado.

CONCLUSIONES // El valor CT de la PCR inicial de SARS-CoV-2 podría relacionarse con la persistencia de su positividad, independientemente de la sintomatología o el patrón radiológico del paciente. Valores bajos de CT en la primera PCR podrían relacionarse con infecciones persistentes.

PALABRAS CLAVE // SARS-CoV-2; Persistencia en tracto nasofaríngeo; CT.

ABSTRACT

BACKGROUND // One of the problems associated to SARS-CoV-2 was its persistence in nasopharyngeal tract. The existence of markers that help to predict this situation could be useful to management of the patients. The objective of this paper was to determine the relationship between the CT value from the initial PCR of patients with COVID-19 and the persistence of the infection.

METHODS // It was performed an observational retrospective study of patients with positive PCR to SARS-CoV-2 attended in emergency department of a general hospital. Data about compatible symptoms, radiological findings and the CT value obtained with each PCR kit were collected. The control group (GO) included patients with a positive PCR followed by two negative PCR results (P-N-N), while problem group (GI) included patients with at least three consecutive positive PCR results (P-P-P). Chronic infections were discarded selecting only patients with negative serology, and only were included those whose PCR were separated by a minimum of five and maximum of twenty days. The comparison between the study groups was carried out using the t-student test for quantitative variables and the χ^2 test for qualitative variables.

RESULTS // The mean CT value were 30.8 and 21.5 ($p<0.001$) on GO and GI, respectively. GO reported higher CT values than GI, regardless of symptoms, radiological pattern and the PCR kit utilized.

CONCLUSIONS // The CT value from the SARS-CoV-2 initial PCR is related to the persistence of its positivity, regardless of the patient's symptoms or radiological pattern. Thus, low CT values could be related to persistent infections.

KEYWORDS // SARS-CoV-2; Persistence in nasopharyngeal secretions; Cycle threshold.

Los autores declaran que no existe ningún conflicto de intereses

CORRESPONDENCIA

José María López-Pintor Huertas
 Servicio de Microbiología,
 Hospital General La Mancha Centro.
 Av. Constitución, 3.
 CP 13600, Alcázar de San Juan
 (Ciudad Real), España.
 jmiph@hotmail.com

CITA SUGERIDA

López-Pintor JM, Herráez-Carrera O, Gaitán Pitera J, Sánchez-López J, Bautista-Serrano I, Arribas-Pérez F, Méndez-González JC, Huertas-Vaquero M, Arias-Arias A, Asencio-Egea MA. Potencial utilidad del CT como marcador de persistencia de PCR positiva en pacientes con COVID-19. Rev Esp Salud Pública. 2022; 96: 26 de octubre e202210081.

INTRODUCCIÓN

EL SARS-COV-2 FUE IDENTIFICADO POR PRIMERA vez como causa de neumonía en Wuhan (China) a finales de diciembre de 2019 (1), y no tardó en convertirse en el causante de una pandemia a nivel mundial. La gravedad inherente a este fenómeno fue agudizada por la falta de recursos materiales y humanos debido al elevado número de contagios que se registraron entre el personal sanitario (2,3). Uno de los principales problemas provocados por este virus fue su elevada persistencia en el tracto nasofaríngeo de algunos pacientes, causando cuarentenas de larga duración; en algunos casos, la presencia del virus llegó a extenderse durante varias semanas, o incluso meses (4,5). Esto dificultó la descarga de los hospitales y provocó un incremento del consumo de pruebas diagnósticas, ya que estos casos necesitaron varios test para confirmar la eliminación del virus. La existencia de marcadores que ayuden a predecir la persistencia de la infección por el SARS-CoV-2 podría resultar útil para el manejo del paciente y sus contactos, con los consecuentes beneficios sanitarios, sociales y económicos.

El objetivo de este estudio fue determinar la relación entre el umbral de ciclo o CT (*Cycle Threshold*) de la PCR inicial de pacientes con la COVID-19 y la persistencia de su positividad mediante tres equipos distintos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Población incluida en el estudio. Se realizó un estudio observacional retrospectivo que incluyó pacientes con PCR positiva para SARS-CoV-2 atendidos en el Hospital General La Mancha Centro (Alcázar de San Juan) entre marzo de 2020 y abril de 2021, y que posteriormente reportaron, al menos, dos PCR más.

Procedimiento. Las muestras utilizadas fueron exudados nasofaríngeos recogidos con hisopos *DeltaSwab* (Deltalab, España), y su conservación hasta el procesamiento se rea-

lizó en refrigeración (4 °C) un máximo de veinticuatro horas. La extracción del material genético se realizó a partir del exudado nasofaríngeo mediante el extractor *KingFisher* (TermoFisher, EE. UU.), partiendo de 200 microlitros de medio de transporte de virus y obteniéndose 50 microlitros de eluido de material genético purificado. Las dianas detectadas por los equipos de amplificación fueron: genes N y E por *Gene Xpert SARS-CoV-2* (Cepheid, EE. UU.); genes N, O y S por *TaqPath COVID-19* (TermoFisher, EE. UU.); y genes N y O por *SARS-CoV-2 RT-PCR KIT* (Vircell, España).

Diseño del estudio. Los pacientes se dividieron en dos grupos: el grupo control (Go) incluyó pacientes con una PCR positiva para SARS-CoV-2 seguida de dos negativas (patrón P-N-N), mientras que el grupo problema (G1) incluyó pacientes con al menos tres PCR positivas consecutivas para dicho patógeno (patrón P-P-P). En ambos grupos se consideró como prueba inicial la primera PCR positiva del paciente y se descartaron las infecciones crónicas, considerando únicamente a pacientes con serología negativa. Además, en pacientes del grupo Go (patrón P-N-N) con serología negativa se descartó que la primera PCR fuese un falso positivo mediante la constatación de una seroconversión posterior. La técnica serológica utilizada para detectar la presencia de anticuerpos totales frente al SARS-CoV-2 fue *Elecsys Anti-SARS-CoV-2* (Roche, Suiza). Se incluyeron pacientes cuyas tres PCR se extrajeron con un mínimo de cinco días y un máximo de veinte días de diferencia.

Variables recogidas. Las variables recogidas fueron: edad y sexo; el resultado de tres PCR consecutivas; serología de SARS-CoV-2; comorbilidades como diabetes, enfermedades cardiovasculares (infarto agudo de miocardio, ictus o hipertensión), renales (enfermedad renal crónica o insuficiencia renal) o respiratorias (enfermedad pulmonar obstructiva crónica, insuficiencia respiratoria, neumonías previas, asma, necesidad de respirador nocturno), tumores de órgano sólido o hema-

Potencial utilidad del CT como marcador de persistencia de PCR positiva en pacientes con COVID-19

JOSÉ MARÍA LÓPEZ-PINTOR et al.

Rev Esp Salud Pública
Volumen 96
26/10/2022
e202210081

Tabla 1
Comparación entre las características clínicas y demográficas de los dos grupos de pacientes estudiados.

Características	G0 (n=64)	G1 (n=695)	p
Edad (DE)	47,5 (21,1)	49,4 (21,4)	0,772
Sexo (mujeres)	45 (75%)	56 (59%)	0,403
Sintomatología COVID-19	11 (19%)	38 (40,9%)	<0,001
Placa rayos patológica	5 (29,4%)	15 (40,5%)	0,387
Diabetes	6 (10%)	11 (11,6%)	0,871
Enfermedad cardiovascular	16 (26,7%)	22 (23,2%)	0,417
Enfermedad renal	1 (1,7%)	3 (3,2%)	0,380
Enfermedad respiratoria	9 (15%)	15 (15,8%)	0,339
Neoplasia	4 (6,7%)	9 (9,5%)	0,296
Ingreso UCI	0 (0%)	2 (2,1%)	-
Exitus 7 días	0 (0%)	0 (0%)	-
Exitus 30 días	0 (0%)	1 (1,1%)	-

Significación estadística: $p < 0,05$.

Tabla 2
Media (y DE) de valores CT estratificados según sintomatología, patrón patológico y equipo comercial utilizado.

Sintomatología		CT G0	n	CT G1	n	p
General	Sí	32,8 (7,1)	11	20,3 (6,5)	38	<0,001
	No	30,3 (6,5)	51	22 (7,1)	55	<0,001
Xpert	Sí	37 (3)	2	30,1 (8,2)	7	-
	No	34 (4,9)	8	21,5 (7,6)	12	<0,001
ThermoFisher	Sí	31,9 (6,1)	9	15,3 (5,4)	19	<0,001
	No	29,8 (3,9)	36	22,1 (6,2)	21	<0,001
Vircell	Sí	-	0	22,7 (3,1)	12	-
	No	30,4 (5,1)	7	22,1 (6,8)	22	0,010

Placa patológica		CT G0	n	CT G1	n	p
General	Sí	35 (2,5)	5	21,4 (4,9)	15	0,005
	No	30,9 (5,8)	12	19,2 (6,1)	22	0,001
Xpert	Sí	35 (2,5)	5	23,5 (7,1)	8	0,004
	No	34,5 (3)	5	23,8 (8,4)	8	0,034
ThermoFisher	Sí	-	0	19,2 (5,7)	5	-
	No	29,8 (3,1)	5	16,2 (8,4)	13	0,016
Vircell	Sí	-	0	18,2 (2,1)	2	-
	No	27 (4,2)	2	22 (-)	1	-

Potencial utilidad del CT como marcador de persistencia de PCR positiva en pacientes con COVID-19

JOSÉ MARÍA LÓPEZ-PINTOR et al.

DISCUSIÓN



NUESTRO ESTUDIO RELACIONA EL VALOR CT de la PCR inicial de SARS-CoV-2 con la persistencia de su detección nasofaríngea. En 2020 fuimos testigos de un colapso sanitario mundial, con escasez de infraestructuras, recursos y personal. Los laboratorios de Microbiología, apoyados por las distintas instituciones sanitarias, tuvieron que abordar retos como la reorganización del laboratorio, la formación y capacitación del personal, la evaluación de nuevas tecnologías, el desarrollo de técnicas caseras y cribados poblacionales mediante *pooling* tras las constantes rupturas de *stock*, todo ello en un tiempo récord. En este contexto, predecir en qué casos la infección por el virus puede ser más persistente podría haber facilitado el manejo y el seguimiento de los pacientes, además de reducir la gran demanda de pruebas diagnósticas solicitadas.

El 10%-20% de los pacientes con infección por SARS-CoV-2 describen síntomas prolongados y recurrentes durante semanas o meses tras el primer episodio de la COVID-19, generando un gran impacto sanitario y social (9). Mientras que la detección del SARS-CoV-2 es un fenómeno restringido al laboratorio, la aparición de la COVID-19 persistente o *Long COVID* considera un amplio abanico de variables clínicas. Sin embargo, conocer las dinámicas del virus y los factores que influyen en su presencia prolongada y en su velocidad de aclaramiento podría facilitar el manejo clínico del paciente. Posibles teorías que explican la persistencia de la infección son la presencia del virus en reservorios como el epitelio intestinal durante largos periodos de tiempo, la tormenta inflamatoria o una respuesta inmune desregulada (10). Se han propuesto diversos biomarcadores para determinar el pronóstico del paciente infectado por SARS-CoV-2 (11-14), pero los parámetros relacionados con la persistencia de la infección han sido menos estudiados; solamente marcadores muy inespecíficos como la fiebre o la saturación de oxí-

geno podrían estar implicados en la aparición de este fenómeno (15). Según Joukar *et al.*, casi un tercio de los pacientes hospitalizados por la COVID-19 conservaron carga viral en tracto nasofaríngeo cuando recibieron el alta hospitalaria (16). Nuestros datos sugieren que el valor CT de la PCR inicial podría ser un buen marcador del tiempo que se prolongará esa positividad, permitiendo una mejor gestión de los recursos sociosanitarios.

Se estima que el 50% de los casos de transmisión del SARS-CoV-2 se debe a los pacientes asintomáticos y presintomáticos (17), detectados únicamente mediante el cribado poblacional de contactos. Por tanto, son necesarias herramientas útiles tanto en pacientes sintomáticos como en asintomáticos. En este sentido, en nuestro estudio Go reporta valores CT superiores a G1, tanto en pacientes sintomáticos como asintomáticos. De manera análoga, nuestras conclusiones se muestran independientes del resultado de las pruebas radiológicas, por lo que estos hallazgos podrían tener un impacto positivo en un escenario de sobrecarga del sistema sanitario, así como en países con escasos recursos.

Se ha establecido que los pacientes con enfermedad severa presentan PCR positiva para SARS-CoV-2 durante más tiempo (18), y que una alta carga viral alta se relaciona con cursos clínicos más severos (19). En nuestro estudio los pacientes con infección persistente presentan sintomatología con mayor frecuencia que los pacientes sin ella y, además, CT menores en la PCR del diagnóstico se correlacionan con mayor persistencia del virus. En contraposición, para otros autores, el valor CT no resultó un parámetro válido para predecir la duración de SARS-CoV-2 en nasofaringe, aunque sí se asoció inversamente al tiempo de estancia hospitalaria (16).

La interpretación del valor de CT es controvertida, ya que varía según el procedimiento, el gen diana (20) y la calidad de la muestra (21). Actualmente, no conocemos técnicas en el

mercado con el marcador CE para diagnóstico que determinen de manera cuantitativa la carga viral del SARS-CoV-2. La Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica considera que el CT puede resultar de utilidad en el manejo del paciente, siempre que sea una información interpretada por personal capacitado y se tenga en cuenta el contexto clínico del paciente (22).

Este estudio tiene las limitaciones propias de los estudios retrospectivos, como es el sesgo de información. Los dos grupos de pacientes no resultaron ser totalmente homogéneos, por lo que las conclusiones deben tomarse con prudencia, pero diversos estudios han confirmado que en pacientes con infección persistente es más común la presencia de síntomas. Por otro lado, somos conscientes de que no todos los pacientes infectados llegan a desarrollar anticuerpos por diversas causas. Además, no es el objetivo del estudio establecer ningún tipo de equivalencia absoluta entre el valor CT y la carga viral de las muestras. Por último, el número de pacientes con placa radiológica incluidos en el estudio es pequeño, por lo que los resultados deben tomarse con cautela. Probablemente, un mayor número de pacientes arrojaría resultados con mayor significancia estadística. Ampliar el estudio con otros marcadores analíticos relacionados con la persistencia de la infección podría ser de gran utilidad.

Como conclusión, nuestro estudio sugiere que el valor CT de la PCR inicial de SARS-CoV-2 se relaciona con la persistencia de la positividad de dicha PCR, independientemente de la sintomatología del paciente, su patrón radiológico o del equipo de PCR utilizado. Así, valores bajos de CT podrían relacionarse con infecciones persistentes por este virus.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al personal técnico de Microbiología del Hospital General La Mancha Centro su dedicación al diagnóstico de la COVID-19.

BIBLIOGRAFÍA

1. Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. *The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2*. Nat Microbiol. 2020;5(4):536-544.
2. Legido-Quigley H, Mateos-García JT, Campos VR, Gea-Sánchez M, Muntaner C, McKee M. *The resilience of the Spanish health system against the COVID-19 pandemic*. Lancet Public Health. mayo de 2020;5(5):e251-252.
3. Langford BJ, So M, Raybardhan S, Leung V, Soucy J-PR, Westwood D et al. *Antibiotic prescribing in patients with COVID-19: rapid review and meta-analysis*. Clin Microbiol Infect. abril de 2021;27(4):520-531.
4. Qian G-Q, Chen X-Q, Lv D-F, Ma AHY, Wang L-P, Yang N-B et al. *Duration of SARS-CoV-2 viral shedding during COVID-19 infection*. Infectious Diseases. 2 de julio de 2020;52(7):511-512.
5. Fu Y, Li Y, Guo E, He L, Liu J, Yang B et al. *Dynamics and Correlation Among Viral Positivity, Seroconversion, and Disease Severity in COVID-19: A Retrospective Study*. Ann Intern Med. abril de 2021;174(4):453-461.
6. Hu B, Guo H, Zhou P, Shi Z-L. *Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19*. Nat Rev Microbiol. marzo de 2021;19(3):141-154.
7. Jiang F, Deng L, Zhang L, Cai Y, Cheung CW, Xia Z. *Review of the Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)*. J Gen Intern Med. mayo de 2020;35(5):1545-1549.
8. TUTORIAL PARA EVALUACIÓN E INFORME DE LA RADIOGRAFÍA DE [Internet]. SERAM | 35 CONGRESO NACIONAL SERAM EDICIÓN VIRTUAL 19-26 MAYO 2021. [citado 28 de julio de 2021]. Disponible en: <https://seram.es/index.php/informacion/noticias/1424-tutorial-para-evaluacion-e-informe-de-la-radiografia-de-torax-en-la-infeccion-covid-19?iccaldate=2020-04-1>
9. Davis HE, Assaf GS, McCorkell L, Wei H, Low RJ, Re'em Y et al. *Characterizing long COVID in an interna-*

Potencial utilidad del CT como marcador de persistencia de PCR positiva en pacientes con COVID-19

JOSÉ MARÍA LÓPEZ-PINTOR et al.

Rev Esp Salud Pública
Volumen 96
26/10/2022
e202210081

tional cohort: 7 months of symptoms and their impact. *EClinicalMedicine*. 15 de julio de 2021;101019.

10. Chang D, Zhao P, Zhang D, Dong J-H, Xu Z, Yang G *et al.* *Persistent Viral Presence Determines the Clinical Course of the Disease in COVID-19*. *J Allergy Clin Immunol Pract*. septiembre de 2020;8(8):2585-2591.e1.

11. Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, Seilmaier M, Zange S, Müller MA *et al.* *Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019*. *Nature*. mayo de 2020;581(7809):465-469.

12. Kermali M, Khalsa RK, Pillai K, Ismail Z, Harky A. *The role of biomarkers in diagnosis of COVID-19. A systematic review*. *Life Sci*. 1 de agosto de 2020;254:117788.

13. Malik P, Patel U, Mehta D, Patel N, Kelkar R, Akmah M *et al.* *Biomarkers and outcomes of COVID-19 hospitalisations: systematic review and meta-analysis*. *BMJ Evid Based Med*. junio de 2021;26(3):107-108.

14. Julián-Jiménez A, Candel-González FJ, González Del Castillo J. *Usefulness of inflammation and infection biomarkers in the Emergency Department*. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. marzo de 2014;32(3):177-190.

15. Li T-Z, Cao Z-H, Chen Y, Cai M-T, Zhang L-Y, Xu H *et al.* *Duration of SARS-CoV-2 RNA shedding and factors associated with prolonged viral shedding in patients with COVID-19*. *J Med Virol*. enero de 2021;93(1):506-512.

16. Joukar F, Yaghubi Kalurazi T, Khoshsorour M, Taramian S, Mahfoozi L, Balou HA *et al.* *Persistence of*

SARS-CoV-2 RNA in the nasopharyngeal, blood, urine, and stool samples of patients with COVID-19: a hospital-based longitudinal study. *Virol J*. 1 de julio de 2021;18:134.

17. Johansson MA, Quandelacy TM, Kada S, Prasad PV, Steele M, Brooks JT *et al.* *SARS-CoV-2 Transmission From People Without COVID-19 Symptoms*. *JAMA Netw Open*. 4 de enero de 2021;4(1):e2035057.

18. Zheng S, Fan J, Yu F, Feng B, Lou B, Zou Q *et al.* *Viral load dynamics and disease severity in patients infected with SARS-CoV-2 in Zhejiang province, China, January-March 2020: retrospective cohort study*. *BMJ*. 21 de abril de 2020;369:m1443.

19. Liu Y, Yan L-M, Wan L, Xiang T-X, Le A, Liu J-M *et al.* *Viral dynamics in mild and severe cases of COVID-19*. *Lancet Infect Dis*. junio de 2020;20(6):656-657.

20. Buchta C, Görzer I, Chiba P, Camp JV, Holzmann H, Puchhammer-Stöckl E *et al.* *Variability of cycle threshold values in an external quality assessment scheme for detection of the SARS-CoV-2 virus genome by RT-PCR*. *Clin Chem Lab Med*. 27 de abril de 2021;59(5):987-994.

21. van Kasteren PB, van der Veer B, van den Brink S, Wijsman L, de Jonge J, van den Brandt A *et al.* *Comparison of seven commercial RT-PCR diagnostic kits for COVID-19*. *J Clin Virol*. julio de 2020;128:104412.

22. García F, Melón S, Navarro D, Paño JR, Galán JC. *Organización del diagnóstico de SARS-CoV-2 y estrategias de optimización*:16.