

Correlación entre el umbral de ciclo de la RPC en tiempo real y la clasificación clínica de la COVID-19

Correlation between real-time PCR cycle threshold and clinical classification of COVID-19

Hans Ramón Quiroz-Ruiz^{1,2}, Pedro Jorge Chimoy-Effio³, Jacinto Joaquín Vértiz-Osores⁴ y Jorge Enrique Bazán-Mayra²

¹Facultad de Ciencias Naturales y Matemática, Universidad Nacional Federico Villarreal, Lima, Perú.

²Laboratorio de Referencia Regional de Salud Pública, Dirección Regional de Salud Cajamarca, Cajamarca, Perú.

³Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú

⁴Facultad de Ingeniería y Gestión, Universidad Nacional Tecnológica de Lima Sur, Lima, Perú.

Conflicto de intereses: Ninguno

El estudio no contó con financiamiento.

Recibido: 28 de diciembre de 2021 / Aceptado: 21 de febrero de 2022

Resumen

Introducción: El umbral de ciclo (en inglés *cycle threshold-Ct*) de la reacción de polimerasa en cadena en tiempo real con transcripción reversa (RT-qPCR) indica la concentración relativa de una secuencia de ARN; este valor se ha relacionado con la expresión de cuadros clínicos en infecciones virales. **Objetivo:** Determinar la correlación entre el valor Ct y la clasificación clínica de la COVID-19. **Método:** Se realizó un estudio transeccional correlacional; los valores Ct se obtuvieron mediante RT-qPCR dirigida al gen *N* del SARS-CoV-2 agrupándolos mediante un estimador robusto central y relacionándose con la clasificación clínica de la COVID-19. **Resultados:** De los 718 casos incluidos en el estudio; 77,7% (558) fueron leves; 21,3% (153) moderados y 1% (7) graves. El valor Ct se agrupó en niveles: Ct bajo $\leq 18,83$; Ct medio $> 18,83 - 30,10$ y Ct alto $> 30,10$. Existió correlación significativa inversa débil ($p = 0,002$; rho de Spearman = $-0,117$) entre el valor Ct y la clasificación clínica. Las características: sexo, edad menor a 65 años, fiebre, escalofrío, diarrea, anosmia y sobrepeso-obesidad estuvieron asociadas al valor de Ct. **Conclusión:** A menor valor Ct se espera una clasificación de mayor gravedad de la COVID-19; no obstante, debido a que la correlación es débil, su utilidad como predictor de gravedad es limitada.

Palabras clave: infecciones por coronavirus; reacción de polimerasa en cadena; carga viral; ciclo umbral.

Abstract

Background: The cycle threshold (Ct) of real-time reverse transcription PCR (RT-qPCR) indicates the relative concentration of an RNA sequence, this value has been related to clinical profile in viral infections. **Aim:** To determine the correlation between the Ct value and the clinical classification of COVID-19. **Method:** A correlational cross-sectional study was carried out, the Ct values were obtained by RT-qPCR directed to the *N* gene of SARS-CoV-2, grouping them by means of a central robust estimator and related to the clinical classification of COVID-19. **Results:** Of the 718 cases included in the study; 77.7% (558) were mild; 21.3% (153) moderate and 1% (7) severe. The Ct value was grouped into levels: low Ct ≤ 18.83 ; medium Ct $> 18.83-30.10$ and high Ct > 30.10 . There was a weak inverse significant correlation ($p = 0.002$; Spearman's rho = -0.117) between the Ct value and the clinical classification. The characteristics: sex, age under 65 years, fever, chills, diarrhea, anosmia, and overweight-obesity were associated with the Ct value. **Conclusion:** The lower the Ct value, a classification of greater severity of COVID-19 is expected, however, because the correlation is weak, its usefulness as a severity predictor is limited.

Keywords: coronavirus infections; polymerase chain reaction; viral load; cycle threshold.

Correspondencia a:

Hans Ramón Quiroz-Ruiz
quirozh_rci@hotmail.com

Introducción

A finales de 2019 en China se notificó un brote de neumonía viral de etiología desconocida. El 2020 la Organización Mundial de la Salud informó de un nuevo coronavirus vinculado a dicho brote¹; el virus fue designado como SARS-CoV-2, causante de la COVID-19 y hoy es considerada una pandemia de proporciones históricas con graves impactos en la salud pública global². Las cifras globales relacionadas a esta enfermedad indican números superiores a 234 millones de casos y más de 4 millones de muertes³. En Perú los datos oficiales a la fecha de este escrito indican la existencia de más de 2 millones de casos positivos y más de 199 mil fallecidos a causa de esta enfermedad⁴.

Se han desarrollado distintas metodologías para la detección del SARS-CoV-2, siendo la RPC en tiempo real con transcripción inversa (en inglés RT-qPCR) la de primera elección⁵. A pesar de esto, se ha descrito que este método tiene limitaciones para evaluar la carga viral y relacionarla con el pronóstico y progresión de la COVID-19⁶; ante esto se ha propuesto que el umbral de ciclo o Ct (por sus siglas en inglés *cycle threshold*) de la RT-qPCR, con capacidad de estimar la carga viral presente en las muestras, podría predecir el pronóstico de la enfermedad. Los valores Ct bajos pueden estar asociados a peores resultados siendo útiles para predecir el curso clínico de la enfermedad, por lo que se ha sugerido informar el valor Ct a los médicos para identificar a pacientes con mayor riesgo de gravedad por la COVID-19, orientando intervenciones sanitarias a nivel clínico y enfocadas en salud pública^{7,8}. Sin embargo, la asociación del valor Ct con distintos factores como pronósticos y manifestaciones clínicas no es del todo clara⁹⁻¹²; debido a esto, se planteó la presente investigación con la finalidad de determinar la correlación entre el valor Ct y la clasificación clínica de la COVID-19.

Materiales y Métodos

Participantes

Se desarrolló un estudio transeccional correlacional, en el Laboratorio Referencial de Salud Pública en la Región Cajamarca-Perú. Entre septiembre de 2020 y enero 2021 se analizaron 1.486 casos positivos a SARS-CoV-2 mediante RT-qPCR dirigida a los genes *N* y *ORF1ab*. Se utilizó una ficha epidemiológica oficial del Ministerio de Salud de Perú (MINSA) para recopilar datos y características de interés agrupándolas por edad, sexo, escenario laboral (es trabajador de salud o población general), síntomas, signos, comorbilidades y factores asociados.

La muestra fue calculada utilizando la plataforma online WinEpi: *Working in Epidemiology* (<http://www.winepi.net/f102.php>), empleando el apartado “muestreo aleatorio y diagnóstico perfecto”, con un nivel de confianza 95%, proporción esperada fijada al 34% y un error absoluto fijado al 2,5%. El método de muestreo fue aleatorio simple utilizando la misma plataforma proporcionando listado; se obtuvo una muestra de 726 casos. Se excluyeron los casos con ficha epidemiológica incompleta y aquellos en los que no se detectó el gen *N*, por lo que este estudio se desarrolló en base a 718 casos elegibles. La clasificación clínica de la COVID-19 se estableció al momento de la toma de muestra, en base a los criterios del MINSA¹³, agrupándose en casos *leves* (incluyó asintomáticos), *moderados* (requirieron hospitalización) y *graves* (hospitalizados en unidad de cuidados intensivos). Esta clasificación se correlacionó con el valor Ct de la RT-qPCR.

RT-qPCR para detección del SARS-CoV-2. Por cada paciente se realizaron dos hisopados (hisopo de dacrón o poliéster con mango plástico), uno se extrajo de la región nasofaríngea y el segundo de la orofaríngea; ambos se colocaron en un mismo medio de transporte viral constituyendo la muestra y se transportaron al Laboratorio Referencial manteniendo cadena de frío 2-8 °C. La extracción del ARN viral se realizó de manera semi-automatizada con el equipo Opentrons modelo OT2, utilizando el *kit* de purificación de ARN viral Sbeadex™ (LGC Biosearch Technologies™); este *kit* utiliza perlas magnéticas validadas para este uso. Las muestras se homogenizaron vigorosamente en un *vortex*, se dejaron reposar por unos minutos para evitar la dispersión de aerosoles en placas de pocillos de 2 mL, se adicionó una alícuota de 100 µL de muestra y 1 µL de control interno del *kit* de amplificación. Se continuó según lo indicado por el fabricante, adicionando a las muestras 100 µL de *buffer* de lisis, luego 180 µL de *binding buffer* + perlas, se colocó la placa en el equipo y se programó la extracción, esta etapa incluye tres *buffers* de lavados: BN1, TN1, TN2 y finalmente el *buffer* de elusión AMP. La RT-qPCR se realizó con un equipo AriaMx modelo G883A (Agilent Technologies, Inc), usando el *kit* comercial SARS-CoV-2 Nucleic Acid Detection (Zybio Inc), con partidores y sondas dirigidas a los genes *N* y *ORF1ab* (marcador diagnóstico FAM y ROX, respectivamente) y un control interno exógeno (VIC), siguiendo el protocolo del fabricante, para un límite de detección de 200 copias/mL. El resultado fue positivo cuando el Ct era < 40 en los genes diana y negativo cuando el valor Ct fue > 40. Los resultados fueron válidos únicamente cuando el Ct del control interno fue < 40. Para este estudio únicamente se analizó el valor Ct del gen *N*.

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados con el software IBM SPSS Statistics 25 (<https://www.ibm.com>). En una

primera etapa, mediante un estimador robusto central (estimador bponderado de Tukey), se establecieron los puntos de corte para agrupar los valores Ct (bajo, medio, alto) respecto a la clasificación clínica de la COVID-19. Para determinar la correlación entre ambas variables se utilizó el Rho de Spearman (ρ). Asimismo, se calculó el coeficiente de incertidumbre para establecer la reducción proporcional del error cuando el Ct es empleado para predecir clasificación clínica de la COVID-19. Se utilizó la prueba de Chi cuadrado (χ^2) para determinar asociación entre características clínico-epidemiológicas con valores Ct; asimismo se midió el coeficiente de incertidumbre. Se consideró significancia estadística cuando $p < 0,05$.

La presente investigación fue aprobada por el Comité de Ética en Investigación del Hospital Nacional Almanzor Aguinaga Asenjo (CIEI-RAL: 22 ENE-2021) y por la Dirección Regional de Salud Cajamarca (Área de Investigación en Salud Pública).

Resultados

De los 718 casos incluidos en el estudio; 558 (77,7%) fueron clasificados como casos leves, 153 (21,3%) moderados y 7 (1%) graves, que requirieron hospitalización en cuidados intensivos (Figuras 1 y 2). El valor Ct se agrupó en niveles, Ct bajo $\leq 18,83$; Ct medio $> 18,83- 30,10$ y Ct alto $> 30,10$ en función a los estimadores robustos (estimador bponderado de Tukey) considerado en la metodología (Figura 3). Al interceptar la clasificación clínica de los casos con el valor Ct, se observó una buena distribución de casos. En el contraste de independencia de variables (Tabla 1), mediante la prueba de χ^2 se observó significancia bilateral ($p < 0,001$; $\chi^2 = 191,824$), indicando que la clasificación clínica de la COVID-19 es dependiente del valor Ct. Asimismo, el poder predictor obtenido con el coeficiente de incertidumbre - U, indicó una reducción proporcional del error de 4,8% ($U = 0,048$; $p < 0,001$) al pronosticar la clasificación clínica mediante el valor Ct. Además, se encontró una correlación significativa ($p = 0,002$) inversa y débil ($\rho = -0,117$), confirmando que a menor valor Ct se tiene una clasificación clínica de mayor gravedad.

Respecto a la asociación del valor Ct y la clasificación clínica de la COVID-19, según el rango etario, sexo y condición laboral como personal de salud (Tabla 2), la prueba χ^2 indicó que en los pacientes de 65 años o menos, la clasificación clínica estuvo asociada significativamente al valor de Ct (≤ 34 años: $p = 0,029$; 35 a 65 años: $p < 0,001$). Los pacientes sobre 65 no tuvieron esta significancia. Respecto al sexo, existió asociación significativa para hombres y mujeres. Asimismo, se observó significancia estadística entre los trabajadores de salud y los que no tenían esa condición. En la asociación del valor Ct con las

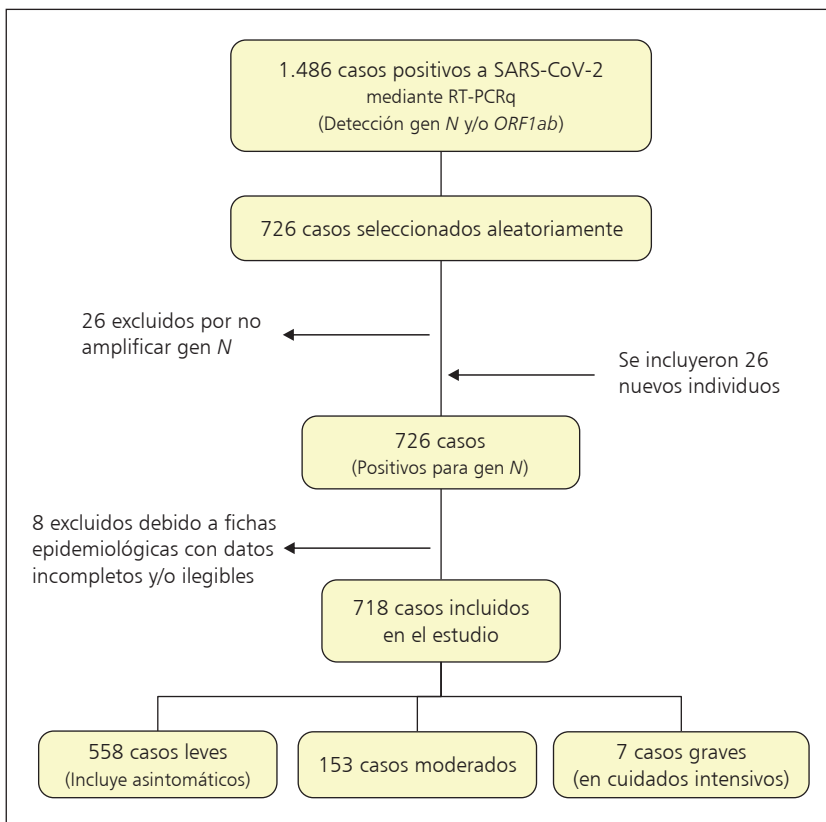


Figura 1. Flujograma para selección de casos elegibles y su clasificación clínica.

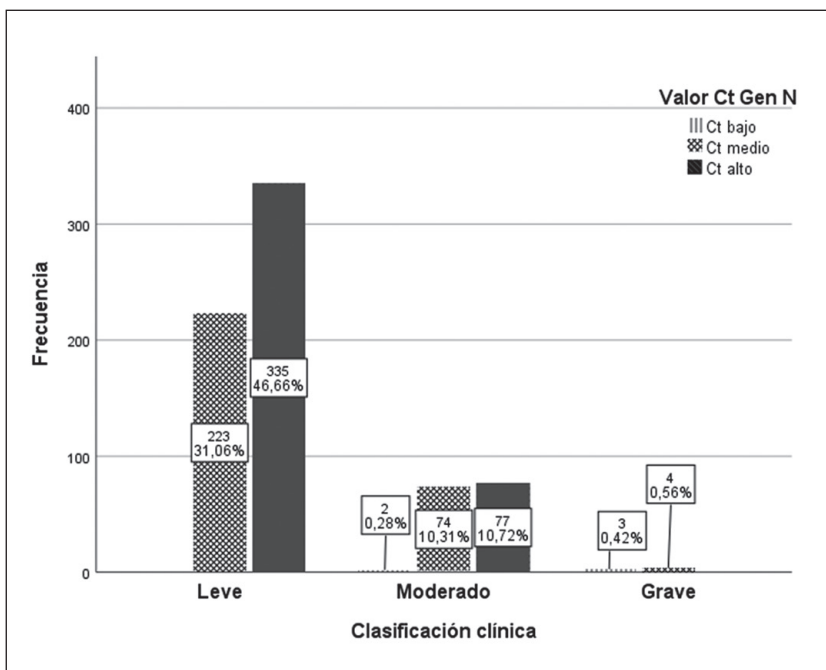


Figura 2. Distribución de casos según su clasificación clínica y umbral de ciclo (Ct).

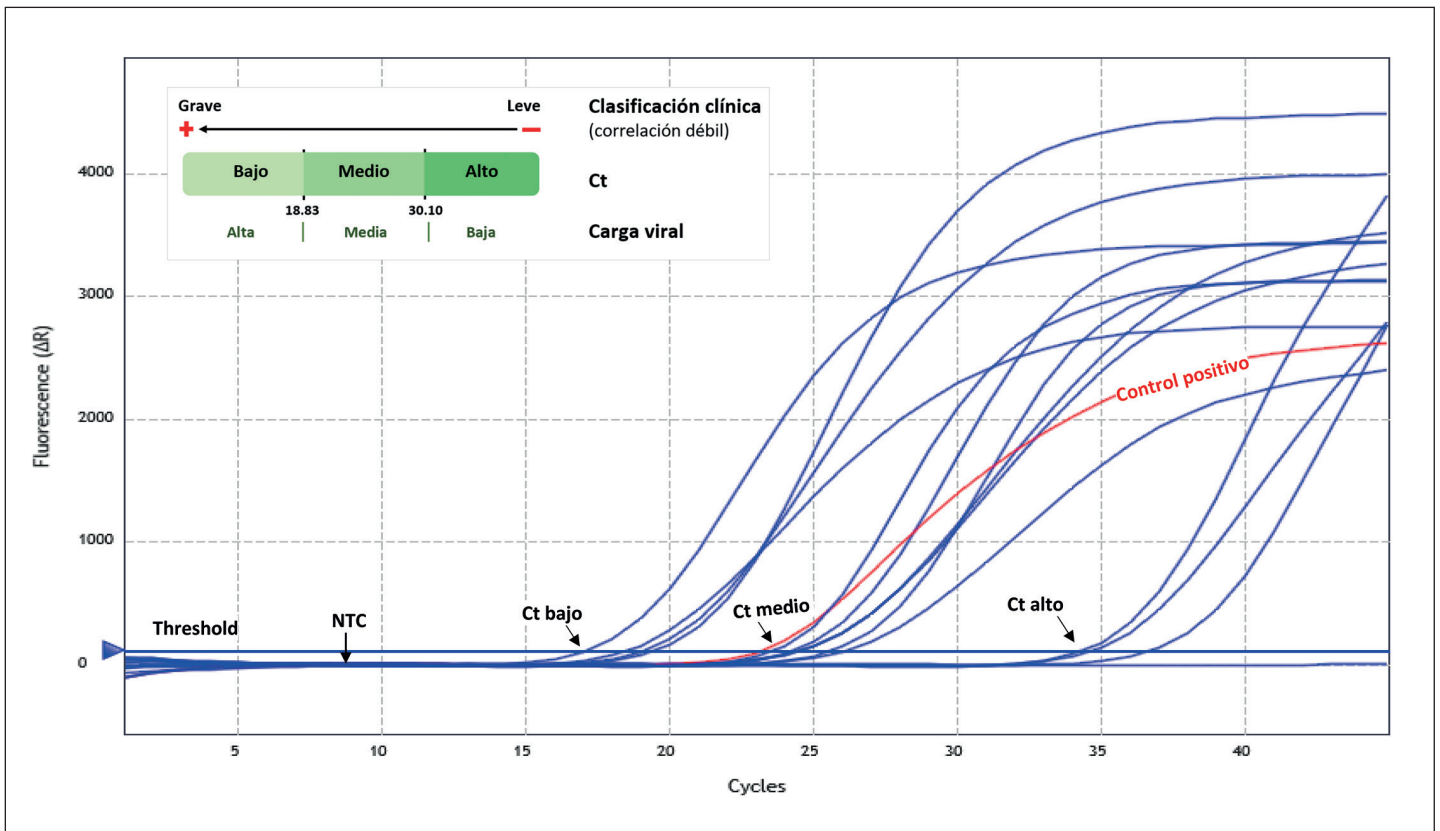


Figura 3. Curvas de amplificación para el gen N de SARS-CoV-2 y rangos del valor Ct cuando es empleado para predecir la clasificación clínica de la COVID-19, calculados mediante el estimador bponderado de Tukey.

Tabla 1. Correlación del valor Ct y la clasificación clínica de la COVID-19

Clasificación clínica	Valor Ct* del gen N			χ^2 / p-valor	Coeficiente de incertidumbre / p-valor	Rho Spearman / p-valor
	Ct ≤ 18,83	18,83 < Ct ≤ 30,10	Ct > 30,10			
Leve	0	223	335	191,824 < 0,001	0,048 < 0,001	-0,117 0,002
Moderado	2	74	77			
Grave	3	4	0			
N		718				

*Puntos de cortes establecidos con el estimador bponderado de Tukey.

características clínicas, la prueba χ^2 no mostró significancia estadística para la mayoría de ellas (Tabla 3); únicamente la fiebre, escalofrío ($\chi^2 = 6,476$; $p = 0,039$), diarrea ($\chi^2 = 9,497$; $p = 0,009$), anosmia ($\chi^2 = 6,896$; $p = 0,032$) y el sobrepeso/obesidad ($\chi^2 = 8,942$; $p = 0,011$) estuvieron asociados significativamente al valor Ct; no obstante, en estos análisis los coeficientes de incertidumbre (U), no presentaron mucha potencia.

Discusión

La detección del SARS-CoV-2 mediante RT-qPCR no indica necesariamente presencia de virus con capacidad de infectar, pero se ha relacionado que Ct bajos son indicadores de infectividad viral¹⁰; asimismo, cuanto más bajo sea el valor Ct, de manera indirecta la carga viral será mayor. En este contexto, antes de la actual pandemia por

Tabla 2. Contraste del valor Ct y la clasificación clínica de la COVID-19, acorde al rango etario, sexo y condición laboral como personal de salud

Indicador	Clasificación clínica	Valor Ct del gen N			χ^2 / p-valor	Coeficiente de incertidumbre / p-valor
		Ct \leq 18,83	Cts > 18,83 a \leq 30,10	Ct >30,10		
Edad (años)						
\leq 34	Leve	0	82	126	7,094	0,025
	Moderado	1	20	19	0,029	0,062
35 a 65	Leve	0	118	184	233,345	0,078
	Moderado	0	38	40	< 0,001	< 0,001
	Grave	3	2	0		
> 65	Leve	0	23	25	3,625	0,036
	Moderado	1	16	18	0,459	0,318
	Grave	0	2	0		
Sexo						
Femenino	Leve	0	130	199	168,134	0,060
	Moderado	0	38	38	< 0,001	< 0,001
	Grave	2	3	0		
Masculino	Leve	0	93	136	56,129	0,042
	Moderado	2	36	39	< 0,001	0,004
	Grave	1	1	0		
Trabajador de salud						
No	Leve	0	179	271	107,907	0,044
	Moderado	2	67	66	< 0,001	< 0,001
	Grave	2	4	0		
Sí	Leve	0	44	64	127,022	0,102
	Moderado	0	7	11	< 0,001	< 0,001
	Grave	1	0	0		

Tabla 3. Contraste del valor Ct con las características clínicas de los casos positivos a COVID-19

Características clínicas	Valor Ct del gen N			χ^2 / p-valor	Coeficiente de incertidumbre / p-valor
	Ct \leq 18,83	Cts > 18,83 a \leq 30,10	Ct > 30,10		
<i>Síntomas y signos</i>					
Dificultad respiratoria					
No	3	244	353	4,735	0,007
Sí	2	57	59	0,094	0,118
Tos					
No	1	117	186	3,835	0,004
Sí	4	184	226	0,147	0,140
Faringodinia					
No	2	119	179	1,101	0,001
Sí	3	182	233	0,577	0,576
Fiebre y escalofrío					
No	5	170	260	6,476	0,009
Sí	0	131	152	0,039	0,016
Malestar general					
No	1	103	174	5,451	0,006
Sí	4	198	238	0,066	0,063

Cefalea						
No	1	182	256	3,792	0,004	
Sí	4	119	156	0,150	0,152	
Diarrea						
No	4	276	346	9,497	0,018	
Sí	1	25	66	0,009	0,007	
Congestión nasal						
No	3	216	308	1,263	0,001	
Sí	2	85	104	0,532	0,542	
Dolor abdominal						
No	5	290	402	1,074	0,006	
Sí	0	11	10	0,584	0,548	
Dolor muscular						
No	4	228	294	1,827	0,002	
Sí	1	73	118	0,401	0,398	
Dolor de articulaciones						
No	5	292	396	0,595	0,004	
Sí	0	9	16	0,743	0,680	
Dolor de pecho						
No	5	275	379	0,542	0,002	
Sí	0	26	33	0,763	0,622	
Náuseas / vómitos						
No	5	285	373	4,653	0,013	
Sí	0	16	39	0,098	0,075	
Ageusia						
No	5	295	391	4,826	0,023	
Sí	0	6	21	0,090	0,069	
Anosmia						
No	5	286	370	6,896	0,019	
Sí	0	15	42	0,032	0,023	
Dorsalgia						
No	5	298	406	0,391	0,004	
Sí	0	3	6	0,835	0,807	
Irritabilidad / confusión						
No	5	300	406	2,326	0,034	
Sí	0	1	6	0,313	0,261	
<i>Comorbilidades y factores asociados</i>						
Alergia						
No	5	300	411	0,064	0,003	
Sí	0	1	1	0,968	0,962	
Cáncer						
No	5	296	407	0,325	0,004	
Sí	0	5	5	0,850	0,823	
Asma						
No	5	296	409	1,431	0,017	
Sí	0	5	3	0,489	0,483	

Enfermedad cardiovascular (incluye hipertensión arterial)						
No	4	270	374	0,830	0,002	
Sí	1	31	38	0,660	0,703	
Diabetes mellitus						
No	5	292	400	0,155	0,002	
Sí	0	9	12	0,925	0,860	
Sobrepeso/obesidad						
No	5	280	402	8,942	0,035	
Sí	0	21	10	0,011	0,011	
Enfermedad pulmonar crónica						
No	5	297	409	0,700	0,009	
Sí	0	4	3	0,705	0,693	
Enfermedad crónica neurológica o neuromuscular						
No	5	299	408	0,240	0,004	
Sí	0	2	4	0,887	0,867	
Enfermedad renal						
No	5	301	409	2,238	0,086	
Sí	0	0	3	0,327	0,188	
Enfermedad hepática						
No	5	298	412	4,174	0,135	
Sí	0	3	0	0,124	0,073	
Hipotiroidismo						
No	5	299	406	1,047	0,013	
Sí	0	2	6	0,593	0,561	
Embarazo						
No	5	299	406	1,047	0,013	
Sí	0	2	6	0,593	0,561	

SARS-CoV-2 ya se había evaluado el valor Ct de distintos virus respiratorios, incluyendo coronavirus, como marcador de gravedad y del proceso clínico^{9,14}; sin embargo, la utilidad del valor Ct como predictor de gravedad de la COVID-19 sigue cuestionada debido a aspectos que son discutidos más adelante.

Los resultados obtenidos en este estudio mostraron una distribución de la clasificación de casos concordantes con el espectro de la enfermedad reportado en un brote inicial¹⁵; no obstante, en contraste a otros estudios^{11,16,17}, en éste se destaca la correlación inversa al interceptar la clasificación clínica de la COVID-19 con las categorizaciones del valor Ct, previamente definidos acorde a los puntos de corte obtenidos mediante el estimador robusto bponderado de Tukey, pese a observarse una relación significativa débil: a medida que el rango del valor Ct desciende puede presentarse un cuadro más grave de la infección. Estos datos son similares a los de otros investigadores, quienes encontraron que casos graves y críticos de COVID-19 presentaban cargas virales

significativamente más altas (expresados en valores Ct) en contraste con los casos leves^{11,16}; asimismo, se ha demostrado que los sintomáticos tenían menores valores de Ct comparados con los asintomáticos¹⁷. En la presente investigación se agrupó a los casos asintomáticos dentro de la categoría leve, manteniéndose la correlación significativa con el valor Ct respecto a las otras categorías de mayor severidad.

Se ha reportado que los valores Ct bajos de muestras del tracto respiratorio inferior están asociados con la gravedad de la COVID-19¹⁸. En este estudio se utilizaron muestras del tracto respiratorio superior (hisopados nasofaríngeos y orofaríngeos) que poseen menor carga viral en comparación con las del tracto respiratorio inferior; esto indicaría que la asociación persiste a pesar del lugar de procedencia de la muestra. Respecto a esto, independientemente del lugar o tipo de muestra, se ha reportado alta tasa de detección de SARS-CoV-2 en todas las muestras respiratorias siempre que estas sean frescas, incluso en RT-qPCR sin extracción previa de ARN¹⁹.

Si bien es cierto que los resultados de esta investigación concuerdan con los de otros investigadores, proponiendo que los valores Ct, utilizados para estimar de manera indirecta la carga viral, pueden ser usados en el pronóstico de la enfermedad causada por el SARS-CoV-2, otros autores no han reportado correlación entre Ct y gravedad por COVID-19^{12,20}, sugiriendo que las comorbilidades y los días transcurridos desde el inicio de síntomas y la realización de la prueba podrían ser de mayor utilidad para establecer una relación más estrecha del Ct con la gravedad de la enfermedad.

Respecto a las características clínico epidemiológicas de los pacientes, el sexo mostró asociación significativa con el valor Ct; un resultado similar se ha reportado previamente respecto a la positividad para COVID-19²¹, aunque también se ha descrito no asociación del Ct con el sexo¹¹. En lo concerniente a la edad, los resultados indican que únicamente la edad menor de 65 años estuvo asociada con la clasificación clínica y valor Ct; en los pacientes sobre 65 años de edad no se observó significancia estadística. Esto indicaría que los adultos mayores de 65 años podrían agravarse incluso con cargas virales medias o bajas. Considerando que en el adulto mayor intervienen otros factores que favorecen para que este grupo sea más vulnerable a la COVID-19²², presentando cuadros de mayor gravedad, otros investigadores también determinaron asociación entre edad y carga viral determinada por el valor Ct¹¹.

Se ha reportado un porcentaje elevado de personal sanitario infectado por COVID-19²³ que al estar expuestos a cargas virales elevadas podrían desarrollar cuadros graves comparados con quienes no son personal sanitario; sin embargo, los hallazgos obtenidos en esta investigación muestran que, indistintamente para el personal de salud y la población general, la clasificación clínica depende del valor Ct.

Respecto a los signos y síntomas, se identificó que en la mayoría de los pacientes no hubo asociación significativa respecto al valor Ct; similar situación fue reportada previamente²⁴. Asimismo, se ha descrito que los síntomas asociados significativamente con la positividad de COVID-19 fueron fiebre, anosmia y diarrea, entre otros²¹, lo cual es compatible con los datos mostrados en este estudio que indican asociación significativa de estos síntomas con el valor Ct. Otros estudios en enfermedades respiratorias virales por coronavirus también encontraron correlación de mayores cargas virales con cuadros diarreicos²⁵; asimismo, se ha demostrado que en enfermedades respiratorias virales, la diseminación viral y la carga viral se correlaciona significativamente con fiebre^{25,26}. Por otro lado, la anosmia asociada a fiebre se ha descrito en un número considerable de casos de COVID-19²⁷; además, la anosmia ha demostrado mayor magnitud de asociación con la positividad de COVID-19²¹.

En cuanto a comorbilidades, se encontró asociación entre obesidad-sobrepeso y el Ct; otros investigadores también encontraron resultados de asociación significativa entre obesidad y gravedad por COVID-19²⁸. Evidentemente se reconoce que la obesidad es una condición relacionada a factores inflamatorios que conllevan a una disfunción metabólica sistémica, alterando las respuestas inmunitarias frente a la patogenicidad de enfermedades²⁹.

Si bien es cierto que los resultados obtenidos en la presente investigación demuestran correlación significativa entre el valor Ct y la clasificación clínica de la COVID-19, se debe considerar que las correlaciones de estos hallazgos se ven influenciadas básicamente por características del virus y del laboratorio que pueden influir en el valor Ct; a esto se suma los factores individuales del hospedero que puedan predisponer a un cuadro más grave, dificultando la interpretación de estos hallazgos estadísticamente significativos⁹. En este punto, se debe reconocer que si bien es cierto el Ct indica inversamente la concentración de ARN diana presente en la muestra, este valor no debe interpretarse como un valor directo de carga viral de SARS-CoV-2.

Se debe mencionar que los valores de Ct pueden variar significativamente entre y dentro de los métodos. El College of American Pathologists (CAP) encuestó recientemente a más de 700 laboratorios utilizando material de prueba de aptitud producido a partir del mismo lote. Dentro de una sola prueba realizada en el mismo instrumento, la diferencia en los valores medios de Ct para diferentes objetivos fue tan alta como 3,0 ciclos. Dentro de un solo gen objetivo para un solo método se observaron diferencias de hasta 12,0 ciclos en todos los laboratorios encuestados. Además, ningún ensayo cuantitativo de SARS-CoV-2 ha recibido autorización por la FDA; tampoco hay material estandarizado de referencia internacional para la validación de estos ensayos cuantitativos. Muchos laboratorios utilizan múltiples pruebas que evalúan distintas dianas genéticas para el SARS-CoV-2 y están realizando pruebas en diferentes plataformas. Esto se suma a la variabilidad potencial de valores Ct producidos por un solo laboratorio. La escasez constante de reactivos de pruebas comerciales presenta un obstáculo importante para realizar grandes estudios de investigación que comparen plataformas de prueba; estos datos son extremadamente valiosos para avanzar en nuestra comprensión de la conmutabilidad del valor Ct en las pruebas moleculares del SARS-CoV-2. Si los proveedores de atención médica e investigadores intentan emplear los valores de Ct como un componente de la evaluación de sus pacientes, advertimos que consideren los puntos descritos por el CAP³⁰.

Este estudio presentó limitaciones, una de ellas fue que el llenado de fichas epidemiológicas que fuera realizado por diferentes profesionales de salud en los distintos

establecimientos de la región; esto conlleva a calidad variable de recogida de datos. Otra limitación del estudio se relacionó con la calidad de la toma de muestra, la cual puede interferir en la carga viral; la toma de muestra fue realizada por el personal de laboratorio de los distintos establecimientos de salud. Una tercera limitación se vinculó a que la clasificación clínica se estableció en la toma de muestra. En este estudio no se realizó seguimiento de casos por lo que la clasificación podría variar en el tiempo e influir en los resultados.

Conclusión

Acorde con los resultados, hay evidencia para indicar

que a menor Ct se espera una clasificación de mayor gravedad de la COVID-19; no obstante, debido a que la correlación es débil y reconociendo que el valor Ct de una misma muestra puede presentar variaciones por distintos factores, la utilidad como predictor de gravedad de la COVID-19 debería ser un referente para futuros trabajos de investigación, debido a que abre una buena posibilidad como predictor de gravedad de esta enfermedad.

Agradecimientos. Al personal del Laboratorio de Referencia Regional de Salud Pública Cajamarca. Esta investigación forma parte de una tesis para optar título profesional de Segunda Especialidad en Genética y Biología Molecular, Universidad Nacional Federico Villarreal.

Referencias bibliográficas

- Ji W, Wang W, Zhao X, Zai J, Li X. Cross-species transmission of the newly identified coronavirus 2019-nCoV. *J Med Virol* 2020; 92(4): 433-40. doi:10.1002/jmv.25682.
- Bullard J, Dust K, Funk D, Strong J E, Alexander D, Garnett L, et al. Predicting infectious Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 from diagnostic samples. *Clin Infect Dis* 2020; 71(10): 2663-6. doi: 10.1093/cid/ciaa638.
- CSSE. COVID-19 Dashboard by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at Johns Hopkins University (JHU). [Fecha de acceso 3 de octubre 2021]. Disponible en: <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>.
- Ministerio de Salud del Perú. Sala Situacional Covid-19 Perú. [Fecha de acceso 3 de octubre 2021]. Disponible en: https://covid19.minsa.gob.pe/sala_situacional.asp.
- Tang YW, Schmitz JE, Persing DH, Stratton CW. Laboratory diagnosis of COVID-19: current issues and challenges. *J Clin Microbiol* 2020; 58(6): e00512-20. doi: 10.1128/JCM.00512-20.
- Yu F, Yan L, Wang N, Yang S, Wang L, Tang Y, et al. Quantitative detection and viral load analysis of SARS-CoV-2 in infected patients. *Clin Infect Dis* 2020; 71(15): 793-8. doi: 10.1093/cid/ciaa345.
- Rao S N, Manissero D, Steele V R, Pareja J. A systematic review of the clinical utility of cycle threshold values in the context of COVID-19. *Infect Dis Ther* 2020; 9(3): 573-86. doi: 10.1007/s40121-020-00324-3.
- Magleby R, Westblade L F, Trzebucki A, Simon M S, Rajan M, Park J, et al. Impact of SARS-CoV-2 viral load on risk of intubation and mortality among hospitalized patients with coronavirus disease 2019. *Clin Infect Dis* 2020; ciaa851. doi: 10.1093/cid/ciaa851.
- Wishaupt J O, Ploeg T V, Smeets L C, Groot R, Versteegh FG, Hartwig NG. Pitfalls in interpretation of CT-values of RT-PCR in children with acute respiratory tract infections. *J Clin Virol* 2017; 90: 1-6. doi:10.1016/j.jcv.2017.02.010.
- Gniazdowski V, Morris C P, Wohl S, Mehoke T, Ramakrishnan S, Thielen P, et al. Repeat COVID-19 molecular testing: correlation of SARS-CoV-2 culture with molecular assays and cycle thresholds. *Clin Infect Dis* 2020; ciaa1616. doi: 10.1093/cid/ciaa1616.
- Huang J T, Ran R X, Lv Z H, Feng L N, Ran C Y, Tong Y Q, et al. Chronological changes of viral shedding in adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China. *Clin Infect Dis* 2020; 71(16): 2158-66. doi:10.1093/cid/ciaa631.
- Shah S, Singhal T, Davar N, Thakkar P. No correlation between Ct values and severity of disease or mortality in patients with COVID 19 disease. *Indian J Med Microbiol* 2021; 39(1): 116-7. doi:10.1016/j.ijmmb.2020.10.021.
- Ministerio de Salud del Perú. Documento técnico Prevención, Diagnóstico y Tratamiento de personas afectadas por COVID-19 en el Perú. [Fecha de acceso 3 de octubre 2021]. Disponible en: https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/582567/Prevencio%CC%81n_Diagno%CC%81stico_y_Tratamiento_de_personas_afectadas_por_COVID-19_en_el_Peru%CC%81_PDF.
- Memish ZA, Al-Tawfiq J A, Makhdoom H Q, Assiri A, Alhakeem R F, Albarrak A, et al. Respiratory tract samples, viral load, and genome fraction yield in patients with Middle East respiratory syndrome. *J Infect Dis* 2014; 210(10): 1590-4. doi: 10.1093/infdis/jiu292.
- Wu Z, McGoogan J M. Characteristics of and important lessons from the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) outbreak in China: summary of a report of 72,314 cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA* 2020; 323(13): 1239-42. doi: 10.1001/jama.2020.2648.
- 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. *Br Med J* 2020; 369:m1443. doi:10.1136/bmj.m1443.
- Zhou R, Li F, Chen F, Liu H, Zheng J, Lei C, Wu X. Viral dynamics in asymptomatic patients with COVID-19. *Int J Infect Dis* 2020; 96: 288-90. doi:10.1016/j.ijid.2020.05.030.
- Yu X, Sun S, Shi Y, Wang H, Zhao R, Sheng J. SARS-CoV-2 viral load in sputum correlates with risk of COVID-19 progression. *Crit Care* 2020; 24(1): 170. doi:10.1186/s13054-020-02893-8.
- Lübke N, Senff T, Scherger S, Hauka S, Andree M, Adams O, et al. Extraction-free SARS-CoV-2 detection by rapid RT-qPCR universal for all primary respiratory materials. *J Clin Virol* 2020; 130: 104579. doi:10.1016/j.jcv.2020.104579.
- Le Borgne P, Solis M, Severac F, Merdji H, Ruch Y, Alamé Intern K, et al. SARS-CoV-2 viral load in nasopharyngeal swabs in the emergency department does not predict COVID-19 severity and mortality. *Acad Emerg Med* 2021; 28(3): 306-13. doi:10.1111/acem.14217.
- Yan C H, Faraji F, Prajapati D P, Boone C E, DeConde A S. Association of chemosensory dysfunction and COVID-19 in patients presenting with influenza-like symptoms. *Int Forum Allergy Rhinol* 2020; 10(7): 806-13. doi:10.1002/alr.22579.
- Serra Valdés M A. COVID-19. De la patogenicidad a la elevada mortalidad en el adulto mayor

- y con comorbilidades. *Rev haban cienc méd* 2020; 19(3): e3379. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2020000300004.
- 23.- Cuenca-Pardo J, Ramos-Gallardo G, Vélez-Benítez E, Álvarez-Díaz C, Bucio-Duarte J, Iribarren-Moreno R, et al. La importancia de reducir la carga viral para disminuir el riesgo de contagio por COVID-19. *Cir Plast* 2020; 30(2): 78-93. doi:10.35366/97674.
- 24.- Kimball A, Hatfield KM, Arons M, James A, Taylor J, Spicer K, et al. 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): 377-81. doi: 10.15585/mmwr.mm6913e1.
- 25.- Hung I F, Cheng V C, Wu A K, Tang B S, Chan K H, Chu C M, et al. Viral loads in clinical specimens and SARS manifestations. *Emerg Infect Dis* 2004; 10(9): 1550-7. doi: 10.3201/eid1009.040058.
- 26.- Boivin G, Coulombe Z, Wat C. Quantification of the influenza virus load by real-time polymerase chain reaction in nasopharyngeal swabs of patients treated with oseltamivir. *J Infect Dis* 2003; 188(4): 578-80. doi: 10.1086/377046.
- 27.- Vaira L A, Salzano G, Deiana G, De Riu G. Anosmia and ageusia: common findings in COVID-19 patients. *Laryngoscope* 2020; 130(7): 1787. doi: 10.1002/lary.28692.
- 28.- Caussy C, Pattou F, Wallet F, Simon C, Chalopin S, Telliam C, et al. Prevalence of obesity among adult inpatients with COVID-19 in France. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2020; 8(7): 562-4. doi: 10.1016/S2213-8587(20)30160-1.
- 29.- Ouchi N, Parker J L, Lugus J J, Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol* 2011; 11(2): 85-97. doi: 10.1038/nri2921.
- 30.- Rhoads D, Peaper D R, She R C, Nolte F S, Wojewoda C M, Anderson NW, et al. College of American Pathologists (CAP) Microbiology Committee Perspective: caution must be used in interpreting the cycle threshold (Ct) value. *Clin Infect Dis* 2021; 72(10): e685-e686. doi: 10.1093/cid/ciaa1199.