

ARTÍCULO ORIGINAL

Distribución de los valores del Ct en la RT-PCR para la variante Ómicron de SARS-CoV-2 al momento del diagnóstico

Distribution of Ct values in RT-PCR for the SARS-CoV-2 Omicron variant at diagnosis

Parra-Ortega Israel,* Carbajal-Franco Ebzadrel,* Galaviz-Hernández Stephania,* Romero-Navarro Benjamín,‡ De la Rosa-Zamboni Daniela,§ Moreno-Miranda Roberto,¶ Ortega-Riosvelasco Fernando,¶ Pujol-Juan Carlos,¶ López-Moreno Víctor Eduardo,¶ Gamiño-Arroyo Ana Estela,¶ López-Martínez Irma,|| Barrera-Badillo Gisela,** Nieto-Rivera Brenda*

Palabras clave:

Cycle threshold, SARS-CoV-2, prueba molecular.

Keywords:

Cycle threshold, SARS-CoV-2, molecular test.

RESUMEN

Introducción: Ante el preocupante surgimiento de la nueva variante del virus SARS-CoV-2 denominada Ómicron, nos dimos a la tarea de describir la información recopilada durante el proceso analítico de la prueba molecular empleada (RT-PCR) para la identificación de SARS-CoV-2 en el laboratorio clínico del Hospital Infantil de México «Federico Gómez» (HIMFG) con base en los protocolos de diagnóstico molecular establecidos. **Material y métodos:** Se realizó un análisis retrospectivo con la información obtenida en el laboratorio clínico del HIMFG durante la actual pandemia, se utilizaron los valores del *cycle threshold* (Ct) del control interno y de los genes virales en los casos positivos a SARS-CoV-2. **Resultados:** La distribución de los valores del Ct en los pacientes pediátricos y adultos de 2020 versus 2021 (Ómicron) es estadísticamente significativa (prueba de la U de Mann-Whitney $p < 0.0001$). **Conclusión:** Con base en las observaciones realizadas podemos concluir que el valor del Ct de los pacientes positivos a SARS-CoV-2 (variante Ómicron) es mucho menor que lo identificado en el año 2020 tanto en pacientes pediátricos como adultos.

ABSTRACT

Introduction: Given the emergence of SARS-CoV-2 variant of concern known as Omicron, we took on the task of describing the information collected within the analytical process of the molecular test (RT-PCR) used in the identification of SARS-CoV-2 in the clinical laboratory of the Hospital Infantil de México «Federico Gómez» (HIMFG), based on established molecular diagnostic protocols. **Material and methods:** A retrospective analysis was carried out with information obtained in the HIMFG clinical laboratory during the current pandemic, using the values of the cycle threshold (Ct) of the internal control and viral genes in positive SARS-CoV-2 cases. **Results:** Ct values distribution in pediatric and adult patients in 2020 versus 2021 (Omicron) is statistically significant (Mann-Whitney U test $p < 0.0001$). **Conclusion:** Based on our observations we can conclude that the Ct value of SARS-CoV-2 positive patients (Omicron variant) is much lower than that identified in 2020, both in pediatric and adult patients.

* Departamento de Laboratorio Clínico, Hospital Infantil de México «Federico Gómez», CDMX, México.
‡ Subdirección de Servicios Auxiliares de Diagnóstico, Hospital Infantil de México «Federico Gómez», CDMX, México.



Citar como: Parra-Ortega I, Carbajal-Franco E, Galaviz-Hernández S, Romero-Navarro B, De la Rosa-Zamboni D, Moreno-Miranda R et al. Distribución de los valores del Ct en la RT-PCR para la variante Ómicron de SARS-CoV-2 al momento del diagnóstico. Rev Mex Patol Clin Med Lab. 2021; 68 (3): 102-106. <https://dx.doi.org/10.35366/105026>

§ Subdirección de Atención Integral al Paciente, Hospital Infantil de México «Federico Gómez». CDMX, México.

¶ Departamento de Epidemiología Clínica, Hospital Infantil de México «Federico Gómez». CDMX, México.

|| Dirección de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos, Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos. CDMX, México.

** Laboratorio de Virus Respiratorios, Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos. CDMX, México.

Correspondencia:

M en C. Brenda Nieto Rivera

E-mail:

bren.nieto95@gmail.com

Recibido: 31/01/2022

Aceptado: 03/02/2022

INTRODUCCIÓN

El 25 de noviembre de 2021, a casi dos años de la notificación del primer caso de COVID-19, teniendo estimaciones por cerca de 260,000,000 de casos y 5.2 millones de muertes,¹ se alerta sobre una nueva variante de preocupación (VOC, por sus siglas en inglés) del virus SARS-CoV-2, la cual fue denominada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como Ómicron.²

Las variantes del virus SARS-CoV-2 descritas anteriormente (Alfa, Beta y Delta) se asociaron en todo el mundo con oleadas de infecciones. Cada variante ha presentado características distintas con respecto a las anteriores, lo cual hace imperativo el desarrollo de herramientas diagnósticas eficientes que apoyen a los clínicos en la toma de decisiones con la finalidad de contener las complicaciones en los pacientes y, de manera colectiva, cortar la transmisión de la variante circulante.¹⁻⁴

Por lo anterior, y basados en observaciones realizadas con anterioridad,⁵⁻⁷ el objetivo del presente trabajo es describir la información recopilada durante el proceso analítico de la prueba molecular (RT-PCR) utilizada para la identificación de SARS-CoV-2 en el laboratorio clínico del Hospital Infantil de México «Federico Gómez» (HIMFG), con base en los protocolos de diagnóstico molecular establecidos y recomendados por el Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (InDRE).⁴⁻⁵

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un análisis retrospectivo con datos obtenidos en el laboratorio clínico del HIMFG durante la actual pandemia (23 meses). La información se empleó de la siguiente forma:

1. Se seleccionaron los resultados de 176 pacientes así como de 122 trabajadores de la salud (médicos, enfermeras, personal de apoyo) que fueron diagnosticados en el HIMFG con la infección por SARS-CoV-2 en el periodo de abril a junio de 2020, teniendo un total de 298 resultados positivos que fueron seleccionados como el grupo inicial para la comparación de los valores del *cycle threshold* (Ct) de los genes virales.

2. Posteriormente, se seleccionaron los resultados de 78 pacientes (19 pacientes pediátricos y 54 trabajadores de la salud, médicos, enfermeras, personal de apoyo) que fueron diagnosticados en el HIMFG con la infección de SARS-CoV-2 en el periodo de diciembre de 2021 a enero de 2022, los cuales fueron identificados por secuenciación en el Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica (InDRE) con la infección de la variante Ómicron. Se documentaron todas las características del ensayo analítico en la detección de SARS-CoV-2 realizado en el HIMFG por reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR) en los diferentes grupos de pacientes.
3. En todos los casos se registraron los valores del *cycle threshold* (Ct) de los genes virales y el control interno (RNasa P). Para el análisis estadístico, la carga viral relativa se estimó únicamente por el valor del Ct del gen *RdRp*.
4. Se realizó un análisis estadístico descriptivo con los datos obtenidos a partir de los ensayos de laboratorio con el sistema informático *GraphPad Prism 6.0* para Windows.

RESULTADOS

Los resultados de las 376 pruebas positivas a la presencia de SARS-CoV-2 se describen en la *Figura 1*, donde se hacen evidentes las diferencias en la distribución de los valores de Ct entre los pacientes adultos y pediátricos de 2020 y 2021 (confirmados para la variante Ómicron).

En la *Tabla 1* se muestran los resultados que se obtienen al comparar la distribución de los valores del Ct de los pacientes pediátricos y adultos de 2020 versus 2021, donde se observa que se tiene una distribución distinta y estadísticamente significativa (prueba de la U de Mann-Whitney $p < 0.0001$).

En un estudio previo propusimos la clasificación de la carga viral relativa definiendo un valor a partir del Ct obtenido.⁵ Es así que en este estudio utilizamos nuevamente dichos valores y observamos que si nos apegamos a la clasificación o estimación de la carga viral con base en el Ct de los pacientes (adultos y pediátricos) con la variante Ómicron, no se identifican cargas virales bajas al momento del diagnóstico (*Tabla 2*).

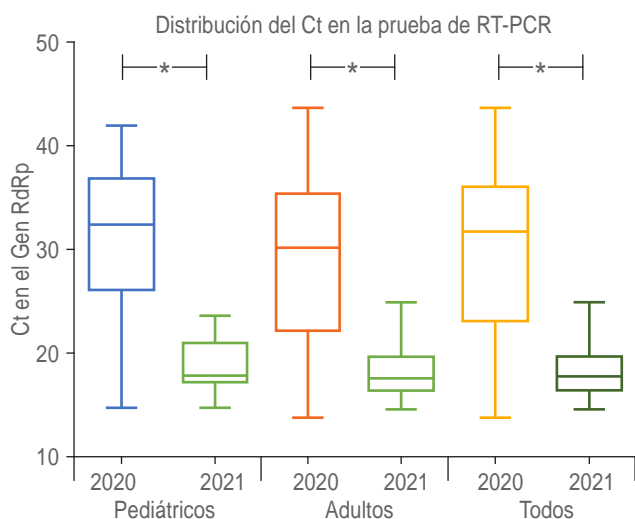


Figura 1: Valor del Ct en la detección de SARS-CoV-2 en pacientes pediátricos y adultos. Se muestran agrupados en los años 2020 y 2021 (Ómicron).

* Prueba de la U de Mann-Whitney $p < 0.0001$. Ct = cycle threshold.

DISCUSIÓN

En los grupos de pacientes estudiados podemos observar una franca diferencia en los Cts al momento del diagnóstico (pediátricos con una media Ct de 30.7 versus 18.84, y en adultos con una media Ct de 28.86 versus 18.19). Los pacientes portadores de la variante Ómicron fueron los que mayor carga viral presentaron.

Los resultados aquí observados pueden tener varias situaciones biológicas y metodológicas a considerar y que deben enumerarse para que en futuras publicaciones o investigaciones puedan comprenderse de manera eficiente.

Biológicas

1. Los casos estudiados en el año 2020 fueron pacientes con una infección primaria por el virus SARS CoV-2, no así los casos del año 2021, ya que algunos de los pacientes habían presentado un cuadro de infección con anterioridad.
2. Una gran limitante de este trabajo es que las variantes descritas previamente (como en el caso de la variante Delta) no fueron incluidas y comparadas.
3. La aplicación de vacunas a finales de 2020 y durante 2021 ha generado una protección a todos los individuos que la recibieron y en estos momentos se está documentando la eficacia y respuesta inmunitaria que dichas vacunas tienen en los diferentes grupos

de personas. Esto debe considerarse en el análisis de la respuesta inmunológica.

Metodológicas

1. Los kits o estuches de detección utilizados en las diferentes publicaciones pueden afectar los valores del Ct, ya que no todos usan los mismos genes blanco y mucho menos los mismos iniciadores o *primers*.
2. Las condiciones analíticas y los diversos protocolos de extracción y amplificación pueden ser variables que afectan la reproducibilidad de los resultados entre laboratorios y centros de investigación, por tal motivo es indispensable tener condiciones de repetibilidad al realizar o tratar de hacer inferencias basadas en los Cts de las pruebas de SARS-CoV-2.
3. Si bien se han establecido momentos clave para la toma de muestra (hisopado nasofaríngeo) a fin de no afectar la calidad, rendimiento, y sensibilidad analítica, esta variable representa al día de hoy un problema importante en numerosos estudios.

Existen pocos datos aún sobre las características de la variante Ómicron que permitan hacer inferencias con respecto a la transmisibilidad de la nueva variante.⁸ Sin embargo, los primeros análisis de datos realizados en Sudáfrica pusieron en evidencia que la variante Ómicron puede propagarse con mayor facilidad y eficiencia de una persona a otra.⁹ La preocupación por la transmisibilidad de esta variante aumenta a medida que se propaga por todo el mundo, ya que se ha descrito que en diversos países los casos han aumentado drásticamente desde su identificación.¹⁰ La tasa de infección de la variante Ómicron en Sudáfrica está aumentando más rápido que durante las tres oleadas previas, de este modo el 30 de noviembre de 2021 se reportó que el número de casos pasó de 10.3 a 16.5% en dos días. Posteriormente, los días 02 y 03 de diciembre, los casos fueron de 22.4 y 24.3% respectivamente,¹¹ lo cual hace inferir una alta tasa de transmisión que puede llegar a replicarse en diferentes partes del mundo.

Por último, la distribución del Ct al momento del diagnóstico ha sido de gran utilidad en la infección del virus SARS-CoV-2. En algunas publicaciones¹²⁻¹⁴ se ha utilizado el valor del Ct de SARS-CoV-2 al momento del diagnóstico y se ha asociado a la gravedad de la infección, las manifestaciones clínicas y las secuelas después de seis meses de la infección por SARS-CoV-2, de lo que se concluye que la cuantificación temprana de SARS-CoV-2 puede ser un marcador predictivo útil para informar estrategias diferenciales de gestión clínica y asignación de recursos.

Tabla 1: Se describe de manera detallada el comportamiento de los datos entre los pacientes (pediátricos y adultos) del año 2020 y del año 2021 (Ómicron). Se evidencia una diferencia estadísticamente significativa utilizando la prueba U de Mann-Whitney.

	Pediátricos 2020	Pediátricos 2021 (Ómicron)	Adultos 2020	Adultos 2021 (Ómicron)	Todos 2020	Todos 2021 (Ómicron)
Número de datos	176	19	122	54	298	78
Valor mínimo	14.83	14.86	13.92	14.79	13.92	14.79
Percentil 25%	26.32	17.42	22.37	16.56	23.23	16.62
Mediana	32.57	17.84	30.27	17.61	31.9	17.79
Percentil 75%	36.81	20.88	35.46	19.64	36.1	19.56
Valor máximo	41.93	23.56	43.67	24.84	43.67	24.84
Media \pm desviación estándar	30.7 \pm 7.203	18.84 \pm 2.324	28.86 \pm 7.615	18.19 \pm 2.156	29.95 \pm 7.417	18.24 \pm 2.195
Intervalo de confianza al 95% inferior	29.63	17.72	27.49	17.6	29.1	17.75
Intervalo de confianza al 95% superior	31.77	19.96	30.22	18.78	30.79	18.74
Valor de p prueba U de Mann-Whitney	< 0.0001		< 0.0001		< 0.0001	

Tabla 2: Distribución de la cantidad de ARN viral al momento del diagnóstico (carga viral relativa) de acuerdo con el tipo de paciente (pediátricos y adultos) en los años 2020 y 2021 (Ómicron) diagnosticados en el Hospital Infantil de México «Federico Gómez».

Valor de Ct (utilizado para estimar la cantidad ARN viral)	2020		2021 (Ómicron)	
	Pediátricos n (%)	Adultos n (%)	Pediátricos n (%)	Adultos n (%)
Muy alta (≤ 20)	23 (13.1)	21 (17.2)	14 (17.2)	45.0 (83.3)
Alta (20-24.9)	16 (9.1)	24 (19.7)	5 (26.3)	9.0 (16.7)
Media (25-29.9)	25 (14.2)	16 (13.1)	0 (0)	0 (0)
Baja (> 30)	112 (63.6)	61 (50.0)	0 (0)	0 (0)

ARN = ácido ribonucleico.

www.medigraphic.org.mx

De manera general se han descrito algunas particularidades de la variante Ómicron, es por ello que en el laboratorio clínico es imperativa la documentación de todas y cada una de las características de los ensayos y pacientes. Del mismo modo resulta relevante el conocimiento epidemiológico y el comportamien-

to de la actual pandemia a nivel local, nacional e internacional.

En nuestro caso, podemos concluir que el valor del Ct de los pacientes positivos a la infección por SARS-CoV-2 (variante Ómicron) es mucho menor que lo identificado en el año 2020 tanto en pacientes pediátricos como adultos.

REFERENCIAS

1. Karim SSA, Karim QA. Omicron SARS-CoV-2 variant: a new chapter in the COVID-19 pandemic. *Lancet*. 2021; 398 (10317): 2126-2128. doi: 10.1016/S0140-6736(21)02758-6.
2. WHO. WHO coronavirus (COVID-19) dashboard. 2021. [Accessed Nov 29, 2021] Available in: <https://covid19.who.int/>
3. WHO. Update on omicron. Nov 28, 2021. [Accessed Nov 30, 2021] Available in: <https://www.who.int/news/item/28-11-2021-update-on-omicron>
4. Fontanet A, Autran B, Lina B, Kieny MP, Abdool Karim SS, Sridhar D. SARS-CoV-2 variants and ending the COVID-19 pandemic. *Lancet*. 2021; 397: 952-954.
5. Parra-Ortega I, Carbajal-Franco E, Vilchis-Ordoñez A, Ángeles-Floriano T, Nieto-Rivera B, López-Martínez I et al. Distribución de los valores del Ct en la RT-PCR para SARS-CoV-2 al momento del diagnóstico en pacientes pediátricos mexicanos. *Rev Mex Patol Clin Med Lab*. 2020; 67 (4): 176-182.
6. Parra-Ortega I, Vilchis-Ordoñez A, López-Martínez B, Angeles-Floriano T. Analytical recommendations for SARS-CoV-2 identification by RT-PCR in pediatric patients. *Bol Med Hosp Infant Mex*. 2021; 78 (3): 171-180.
7. Heald-Sargent T, Muller WJ, Zheng X, Rippe J, Patel AB, Kocielek LK. Age-related differences in nasopharyngeal severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) levels in patients with mild to moderate coronavirus disease 2019 (COVID-19). *JAMA Pediatr*. 2020; 174 (9): 902-903. doi: 10.1001/jamapediatrics.2020.3651.
8. Araf Y, Akter F, Tang YD, Fatemi R, Parvez SA, Zheng C, Hossain G. Omicron variant of SARS-CoV-2: Genomics, transmissibility, and responses to current COVID-19 vaccines. *J Med Virol*. 2022. doi: 10.1002/jmv.27588.
9. Foxnews. Omicron is better at evading vaccines, new COVID-19 transmissibility data confirms. 2021, [Accessed December 16, 2021] Available in: <https://www.foxnews.com/world/omicron-vaccines-new-covid-transmissibility-data>
10. Shanmugaraj B, Malla A, Khorattanakulchai N, Phoolcharoen W. SARS-CoV-2 omicron variant: could it be another threat? *Journal of Medical Virology*. 2021.
11. Dyer O. Covid-19: South Africa's surge in cases deepens alarm over omicron variant. *BMJ*. 2021; 375: n3013.
12. Trunfio M, Venuti F, Alladio F, Longo BM, Burdino E, Cerutti F et al. Diagnostic SARS-CoV-2 Cycle threshold value predicts disease severity, survival, and six-month sequelae in COVID-19 symptomatic patients. *Viruses*. 2021; 13: 281.
13. Choudhuri J, Carter J, Nelson R, Skalina K, Osterbur-Badhey M, Johnston A et al. SARS-CoV-2 PCR cycle threshold at hospital admission associated with patient mortality. *PLoS One*. 2020; 15: e0244777.
14. Shah VP, Farah WH, Hill JC, Hassett LC, Binnicker MJ, Yao JD et al. Association between SARS-CoV-2 cycle threshold values and clinical outcomes in patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Open Forum Infect Dis*. 2021; 8: ofab453.