

Asociación de los valores de Ct con la transmisión de SARS-CoV-2: propuesta de una herramienta para la toma de medidas e intervenciones en salud pública

Palabras clave: COVID-19; PCR; SARS-CoV-2; valores de Ct; transmisión; contacto estrecho, Córdoba, Argentina.

Grupo de trabajo

Facultad de Ciencias Médicas, UNC: INICSA-CONICET y Cátedra Estadística y Bioestadística Dra. María del Pilar Díaz. *Instituto de Virología “Dr. JM. Vanella”*InViV – Conicet: Dra. María Belén Pisano, Dra. Viviana Elizabeth Ré.

CIECS-CONICET Sol Minoldo.

Ministerio de Salud de la Provincia Córdoba: *Ministro de Salud* Dr. Diego Cardozo; *Secretaria de Prevención y Promoción de la Salud:* Bioq. Esp. Virol. María Gabriela Barbás, *Epidemiología* Mg. Laura López, Dr. Eugenio Cecheto, Dra. Ana Willington; *Hospital Rawson* Dr. Miguel Díaz.

Laboratorio Central Ministerio de Salud: Bioq. Esp. Virol. Gonzalo Castro, Bioq. Esp. Virol. Paola E. Sicilia.

Marco Teórico

La dinámica de transmisión por SARS-CoV-2 es altamente heterogénea debida a variables demográficas y socioeconómicas, comportamientos poblacionales y a las diferentes intervenciones.

Con el tiempo transcurrido, se observa que la transmisión del SARS-CoV-2 es multifactorial y condicionada a diferencias individuales en la biología. El riesgo de transmisión aumenta con la duración de la exposición y la proximidad de las interacciones sociales (He et al., 2020) También se registra que la mitad de los eventos de transmisión secundaria ocurren en la fase pre-sintomática, y que el período de aislamiento aumenta el riesgo de transmisión dentro del grupo familiar y en los hogares, mientras no se tomen correctamente las medidas de aislamiento domiciliario (Sun et.al.,2021). Sin embargo, resta mucho aún por dilucidar acerca de su dinámica y epidemiología. Por ello, es necesario profundizar el conocimiento y brindar herramientas objetivas para su estudio, que permitan una mejor comprensión de los factores que contribuyen en la transmisión de SARSCoV-2. Ello permitirá maximizar el control de la pandemia al tiempo que se minimiza el costo social, particularmente a medida que debido al paso del tiempo se desgastan en los países las medidas de prevención.

En este sentido, reportes previos sugieren que la carga viral de SARS-CoV-2 puede ser un factor importante para determinar tanto la gravedad de la enfermedad como la probabilidad de transmisión (Rao et.al., 2020). Algunos estudios reportan correlación de dichos valores con la infectividad *in vitro*, mostrando que bajos valores de Ct están asociados con alta positividad en cultivo celular (Rao et.al., 2020).

Si bien actualmente en la rutina diagnóstica de SARS-Cov2 no se mide específicamente carga viral, el método molecular estándar para el diagnóstico de la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19) es la reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa en tiempo real (RT-PCR) (Tang et.al., 2020), que genera el valor del umbral de ciclo (Ct). Ese valor representa el número de ciclos de amplificación necesarios para que el gen objetivo supere un nivel de umbral. Por lo tanto, los valores de Ct están inversamente relacionados con la cantidad de ARN viral, esto es, valores de Ct bajos corresponden a valores altos de concentraciones de ARN viral. Así, los valores Ct pueden proporcionar mediciones semicuantitativas o un método indirecto para cuantificar el número de copias de ARN viral en la muestra, asociándolo a la mayor o menor replicación viral y por tanto a diferentes niveles de excreción.

En un entorno clínico, informar los resultados cualitativos de la prueba SARS-CoV-2 como positivos o negativos es suficiente para el diagnóstico. Si bien no está claro si se puede aprovechar la capacidad semicuantitativa del método que determina la carga viral a través de los valores del Ct, existe numerosa evidencia disponible sobre las ventajas de informar este indicador al equipo médico para la toma de decisiones clínicas y de manejo de pacientes con COVID -19, así como para orientar las decisiones en el control de infecciones, en salud pública y en salud ocupacional (Salvatore et.al., 2020, Bustin et.al.,2020).

Por otra parte, el rastreo de contacto es una herramienta que brinda información para identificar las cadenas de transmisión y comprender la dinámica de los brotes. Así, los datos generados pueden, a su vez, brindar información valiosa sobre parámetros epidemiológicos clave y factores de riesgo de transmisión, lo que allana el camino para intervenciones más específicas y rentables.

El **objetivo** del presente trabajo fue generar una herramienta que brinde mayor eficiencia en el manejo de brotes y el control de la pandemia, en la provincia de Córdoba, evaluando el riesgo individual de producir contagios en función del valor de Ct, sintomatología y cantidad de contactos estrechos. Para ello se caracterizó la distribución de personas con diagnóstico positivo de COVID-19 correlacionando los valores de Ct y la probabilidad de transmisión de SARS-CoV-2 originada desde cada individuo a través de la investigación de su red de contactos estrechos. A partir de ello se propone la construcción de una **tasa individual de contagio** que puede ser predicha para cada sujeto considerando las variables

de Ct, cantidad de contactos estrechos y sintomatología reportada, indicando el probable riesgo individual de transmisión.

Metodología de estudio

Muestra: de la población de sujetos infectados con SARS-CoV-2 analizados en el Laboratorio Central de la provincia de Córdoba durante el año 2020, fueron seleccionados aleatoriamente n=358 muestras. En esos casos fueron registrados los valores de Ct correspondientes al gen N del virus SARS-CoV-2. Para la detección de ARN viral se utilizó la técnica de RT-PCR en tiempo real mediante el kit DisCoVery SARS-CoV-2RT-PCR Detection Kit.

A partir del código correspondiente para cada paciente, se construyó una base de datos epidemiológicos que contiene: información de naturaleza demográfica (edad, sexo, procedencia, etc.), fuentes probables de infección, cantidad de contactos estrechos declarados, presentación de síntomas al momento del diagnóstico, como así también el número de contactos estrechos que se positivizaron por cada caso positivo. El rastreo de contactos estrechos es realizado por personal de salud previamente capacitado en investigación epidemiológica, detección y seguimiento de contactos estrechos. En este sentido, la entrevista se fundamenta en detectar todas las personas que han tenido contacto estrecho en las últimas 48hs previas a la confirmación del caso, para educar, informar y acompañar a las personas brindando las medidas y recomendaciones necesarias para frenar la cadena de contagios garantizando el aislamiento oportuno.

Dado el alto porcentaje de transmisión por contactos estrechos (73%) en la muestra, se construyó un indicador para evaluar la posible asociación entre el valor de Ct y la transmisibilidad. Éste se definió como la **tasa individual pronóstico de contagio (TIPCon)**, obtenida en función de la cantidad de casos ocasionados a partir del caso índice, es decir, el número de casos secundarios registrados, respecto al total de contactos estrechos declarados por el caso. Esto es:

$$TIPCon = \text{Num casos secundarios} / \text{Num de contactos estrechos}$$

Este indicador mide en forma relativa al universo de contactos declarados y la carga o potencia empírica que tuvo cada paciente para lograr nuevos contagios. Así definida, la TIPCon está acotada en el [0,1].

Métodos estadísticos

Los datos demográficos y epidemiológicos fueron extraídos del Sistema integrado de Información Sanitaria Argentino (SISA), del registro de gestión de casos de la provincia en REDMAIN y del sistema Tharsis de gestión de información del Laboratorio Central. Se

caracterizó la muestra de sujetos y sus valores de Ct usando análisis exploratorio uni y bivariado, estudiando la asociación con algunas variables mediante pruebas de chi-cuadrado para tablas de contingencia, así como estimaciones de los coeficientes de correlación de Pearson para el caso de considerar continua la respuesta Ct y alguna covariable (edad, etc.). El nivel de significación fue fijado en $\alpha=0,05$. La misma estrategia fue usada para el estudio empírico de la TIPCon.

Para estudiar la asociación múltiple entre Ct y las covariables indagadas en los sujetos, principalmente presencia de síntomas, fueron ajustados modelos de regresión logística ordinal. Esto fue adoptado en función de que, para los valores de Ct, se construyó una escala según la concentración de ARN asociada al nivel de excreción viral en tres categorías (baja, media y alta, se explica a continuación) y ésta fue considerada luego como variable respuesta. Los modelos ordinales estimaron los coeficientes de riesgo o *odds ratios*, sus errores estándar y su significancia.

Se realizó un análisis de sensibilidad, utilizando la estimación del área bajo la curva ROC, para evaluar la capacidad predictora de TIPCon en función de los síntomas más prevalentes y la categoría de Ct.

Resultados

Las muestras evaluadas pertenecieron a 358 individuos infectados (47%/53% femenino/masculino) de edad promedio (DE) igual a 43 años (11,2 años), siendo el 25% de ellos mayores a 55 años, un 25% menor a 28 años y 5% mayores a 80 años. El nexo epidemiológico principal fue contacto estrecho (73%) seguido por transmisión comunitaria, (Figura 1).

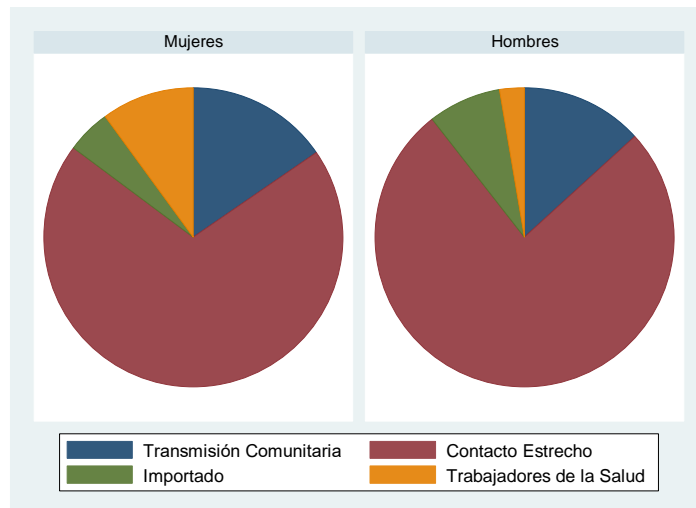


Figura 1. Distribución del nexo epidemiológico reportado en casos

estudiados respecto al sexo. Córdoba.

Estudiando la distribución de Ct, la variable no estuvo correlacionada con la edad de los pacientes ($R=-0,047$, $p=0,374$), ni asociada al sexo ($p=0,722$); presentó un promedio (DE) igual a 25,6 (6,1) Ct, con percentiles 25 y 75 iguales a 19,8 y 31, respectivamente. Esto avaló la **categorización de esta variable en tres categorías de acuerdo al nivel de concentración viral: baja ($Ct \geq 30$, 36%), intermedia ($20 < Ct < 30$, 35%), alta ($Ct \leq 20$, 29%)**, la cual no estuvo asociada a la procedencia del paciente (área urbana y rural, $p=0,693$), ni a las variables demográficas, aunque sí presentó dependencia con respecto al nexo epidemiológico ($p=0,03$, Fig. 2).

La Figura 2 ilustra la gran proporción de sujetos infectados por contacto estrecho y muestra que el porcentaje reunido por las categorías alta/intermedia en ese nexo es diferente, en términos proporcionales, a lo observado en los otros nexos.

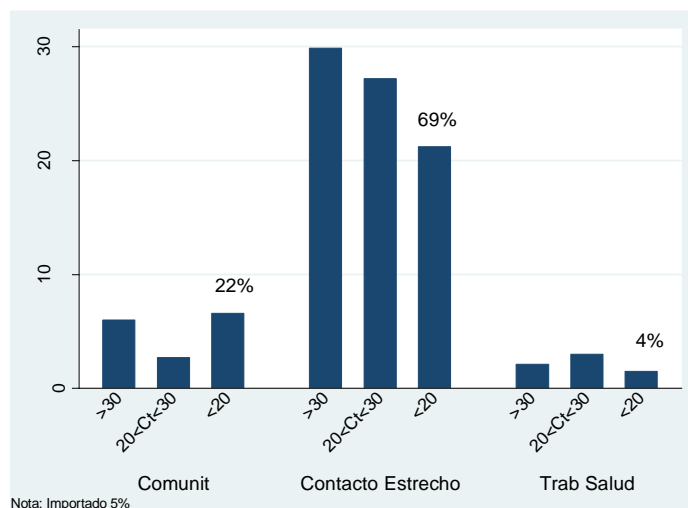


Figura 2. Distribución de las muestras de los individuos infectados según nexo epidemiológico y categorías establecidas según los valores de Ct. Córdoba.

El 85% de los sujetos reportaron algún síntoma (90% en mujeres, 80% en hombres, $p=0,008$). Los síntomas más frecuentes fueron fiebre y tos. La Tabla 1 resume los porcentajes de los principales síntomas reportados, aislados y combinados con el síntoma más frecuente (fiebre). Se observa que existió un 48% de los pacientes que reportaron fiebre, un 21% que presentaron dos síntomas, fiebre y tos, un 10% con estos dos anteriores más odinofagia y, en el total de la muestra, un 5% con cuatro síntomas: fiebre, tos, odinofagia y astromialgia. Aisladamente, un 24% reportó haber presentado anosmia/ageusia, un 29% cefalea, existiendo apenas un 13% con el síntoma diarrea.

Tabla 1: Síntomas reportados por los pacientes estudiados (en porcentajes), aislado y combinados con el síntoma más frecuente. Córdoba.

Síntoma (presencia)	Porcentaje (%)	Combinados con Fiebre § acumulando † de a dos			
Fiebre	48	21 [§]	10 [§]	5 [§]	
Tos	37				
Odinofagia	29				
Astromialgia	29				
Anosmia/ageusia	24				
Astenia	30	17 [†]			
Cefalea	29		15 [†]		
Disnea	14			9 [†]	
Diarrea	13				7 [†]

Analizando de manera conjunta, la escala de concentración viral presentó asociación con la presencia de síntomas: fiebre ($p=0,008$), tos ($p=0,013$), odinofagia ($p=0,027$), disnea ($p=0,053$), artromialgia ($p=0,004$), anosmia/ageusia ($p<0,001$), astenia ($p=0,016$), dolor de cabeza ($p=0,038$) y diarrea ($p=0,851$), lo cual es ilustrado en la Figura 3 para los dos síntomas más prevalentes (fiebre y tos).

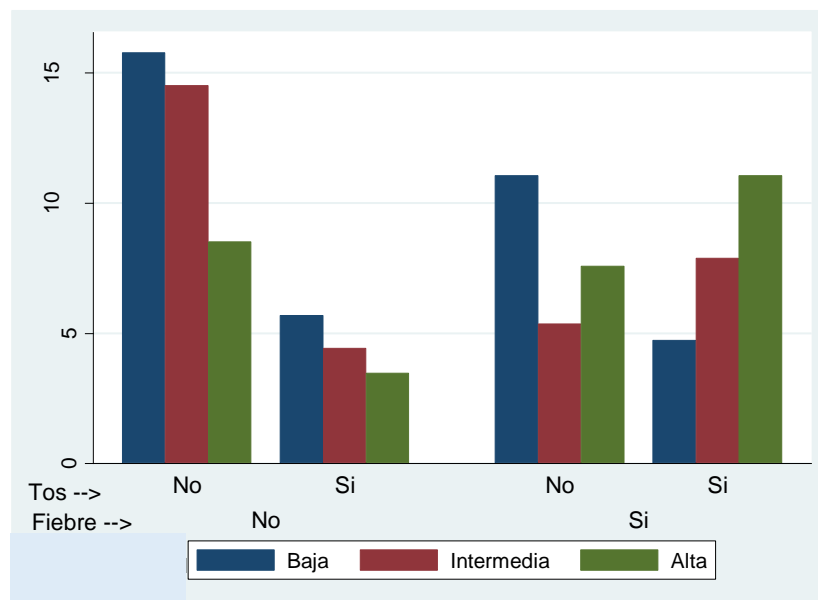


Figura 3. Distribución de los casos estudiados según la presencia/ausencia de los dos síntomas más frecuentes (fiebre y tos) y los grupos categorizados según los valores de carga viral (bajo, intermedio, alto). Córdoba.

Los resultados del modelo de regresión logística ordinales obtenidos para evaluar la escala de concentración de ARN (valor Ct) en relación con la presencia conjunta de algunos síntomas (fiebre, astenia, cefalea y odinofagia) se presentan en la Tabla 2. Dichos resultados muestran principalmente que: a) la escala de excreción viral en tres categorías, propuesta desde lo descriptivo, resultó significativa, con dos puntos de corte mostrando estimaciones de *odds ratios* en un gradiente creciente de riesgo y b) la mayoría de esos síntomas estuvieron asociados a altas concentraciones virales, por lo tanto, a valores bajos de Ct.

La cantidad de contactos declarados (por el 73% de los pacientes) tuvo un rango entre 0 y 117 personas, con un valor medio entre 9 y 10 personas (P90=20 y P95=39 personas). Usando esta variable para la definición de la tasa individual de contagio (como se explicó en la sección anterior), los resultados indicaron que la distribución de la TIPCon fue heterogénea, con un valor promedio igual a 0,28 (0,11) y valores de percentiles 25 y 75 iguales a 0 y 0,48, respectivamente. Esto significa que, **en promedio, es de esperar que un 28% de los contactos declarados se infecten, existiendo un 25% de la muestra con, aproximadamente, 50% de sus contactos estrechos infectados.**

Dicho indicador del posible contagio para cada sujeto no estuvo asociado a las características demográficas (edad, $p=0,569$; sexo, $p=0,84$) y presentó asociación significativa con la escala de excreción viral ($p=0,012$), mostrando distribuciones de dichas tasas con patrones diferentes entre las categorías de carga viral (Figura 4), principalmente en la categoría intermedia, respecto a la categoría baja. La Figura 4 muestra también que, cuando se analiza esta tasa en cada subgrupo de pacientes clasificados por su excreción viral, esto es, en las categorías baja ($n_1=130$ sujetos), intermedia ($n_2=124$) y alta ($n_3=104$), el valor medio de TIPCon en la categoría baja es significativamente diferente de los obtenidos en intermedia ($p=0,002$) y alta ($p=0,011$). Este aspecto es ya reportado por varios autores. Esto es, **el contagio de cada sujeto, o su red de contagios, está íntimamente vinculado al nivel de concentración viral del caso declarado (núcleo).**

Tabla 2. Estimaciones de *odds ratios*, obtenidos a partir de los modelos de regresión logística ordinal (escala concentración ARN/nivel de excreción viral como variable respuesta), para la presencia conjunta de síntomas. Córdoba

Variable	<i>Odds Ratio</i>	p-valor	Intervalo de Confianza (95%)
Fiebre	1,60*	0,033	[1,04-2,46]
Astenia	1,51*	0,045	[1,02-2,47]
Cefalea	1,29	0,058	[0,98-1,91]
Odinofagia	1,52*	0,048	[1,25-2,12]
Escala ordinal de carga viral <i>Cut point1</i>	1,40*		[1,04-2,36]

Cut point2	2,79*	[1,79-3,79]
------------	-------	-------------

*P < 0,05

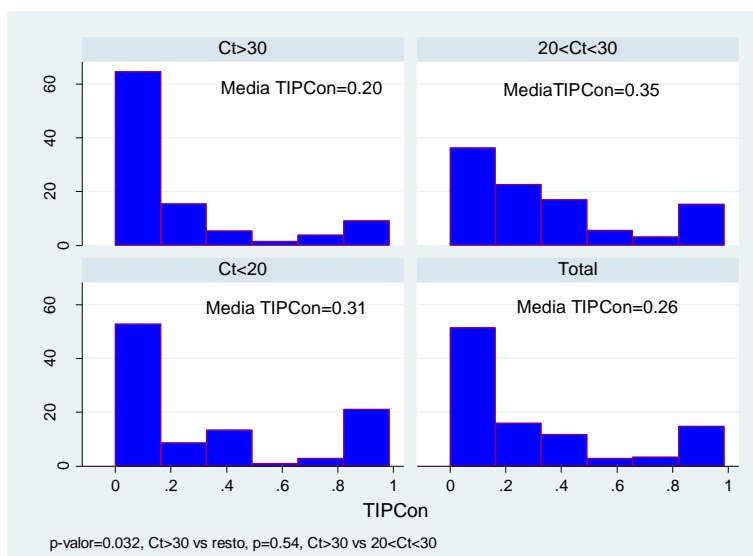


Figura 4. Distribución de la tasa individual predicha de contagio (TIPCon) según categoría de la escala Ct y global (toda la muestra de sujetos). Córdoba.

Cabe destacar que el valor mediano de esta tasa (TIPCon) fue 0,16 (o sea 50% de los casos reportaron una proporción de contagio igual o superior a 0,16). Considerando ese valor como valor de corte para la caracterización del contagio “individual” (categorizando TIPCon en [$<0,16$] y [$>0,16$]) se observó que **el grupo de pacientes con valores de Ct entre 20 y 30 presentó la mayor frecuencia de tasas de contagio individual por encima de 0,16** (Figura 5).

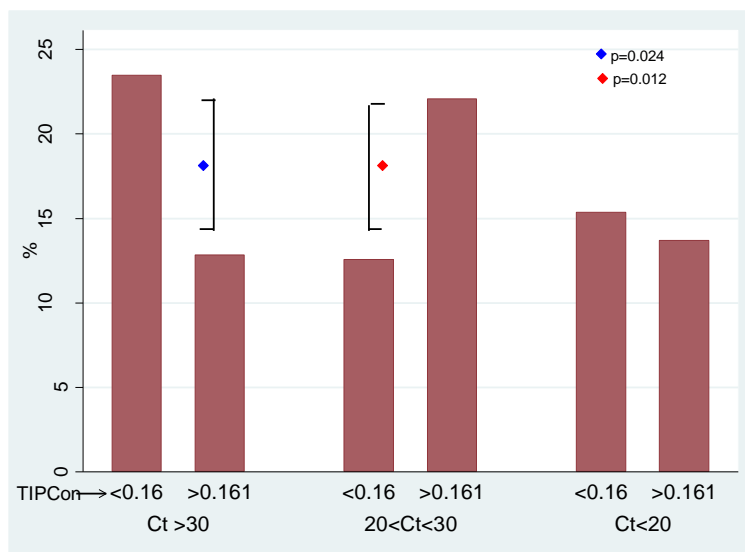


Figura 5. Diagrama de barras de la tasa individual predicha de contagio (TIPCon, en dos categorías) según la escala definida para Ct. Córdoba.

A los fines de obtener un **algoritmo** que sintetice estos resultados y pueda ser de utilidad en Salud Pública, el análisis de sensibilidad para la TIPCon en función de los síntomas más prevalentes y la categoría según el nivel de concentración viral, indicó un área bajo la curva ROC igual a 0,7893 (Fig. 6a), aportando, junto con el modelo anterior, **una regla de decisión (Fig.6.b) que podría ser utilizada como la herramienta concreta para la toma de decisiones en el control y atenuación de la diseminación del virus.** El modelo estructural de la Figura 6b demuestra que **la tasa de contagio individual está condicionada por dos dimensiones: una, la sintomatología** (construida desde la presencia de indicadores clínicos, $p=0,042$) y la otra, **la escala de concentración viral** ($p=0,02$). Ambas establecen un modelo causal para la TIPCon ($p<0,01$) e indican que **el contagio predicho, desde un esquema de transmisión por contacto estrecho, está simultáneamente asociado a la presencia de unos pocos síntomas (principalmente fiebre y tos) y valores de Ct inferiores a 30.**

Este algoritmo puede ser utilizado para la valoración integral de la probabilidad que tiene cada nuevo sujeto de generar más contagios que lo esperado. Por ejemplo, si ingresara un sujeto con un valor de Ct en la categoría intermedia ($20 < Ct \leq 30$), éste tendría 1,40 veces más chances de generar contagios superiores al 20% de sus contactos estrechos (o sea un 40% más que su referencia) comparado con aquellos que tienen un nivel de excreción viral baja ($Ct > 30$). Si ese sujeto, con Ct en la categoría intermedia, además presentara fiebre y tos, esas chances se incrementarían un 60% más, resultando en una tasa de contagio incrementada en un 100%.

Así desde la mirada de abordaje individual de los pacientes, considerando el Ct de la PCR, la presentación clínica y la cantidad de contactos estrechos de las personas, se podría estimar el riesgo de transmisión calculando la tasa individual predicha de contagio. Esto constituye un aporte en el manejo o seguimiento de cada posible núcleo definido por el sujeto-caso positivo y el posible riesgo de la circulación de los mismos. Es también otra óptica desde donde observar la transmisión, desde lo individual y no grupal. Por lo general la bibliografía ofrece indicadores de la dinámica de la epidemia mediante el cálculo de tasas de contagio a nivel poblacional, estimando el R_0 o el R_t (Cislaghi, 2020), por lo cual el presente trabajo ofrece una herramienta puntual que puede ser usada en territorio de manera confiable.

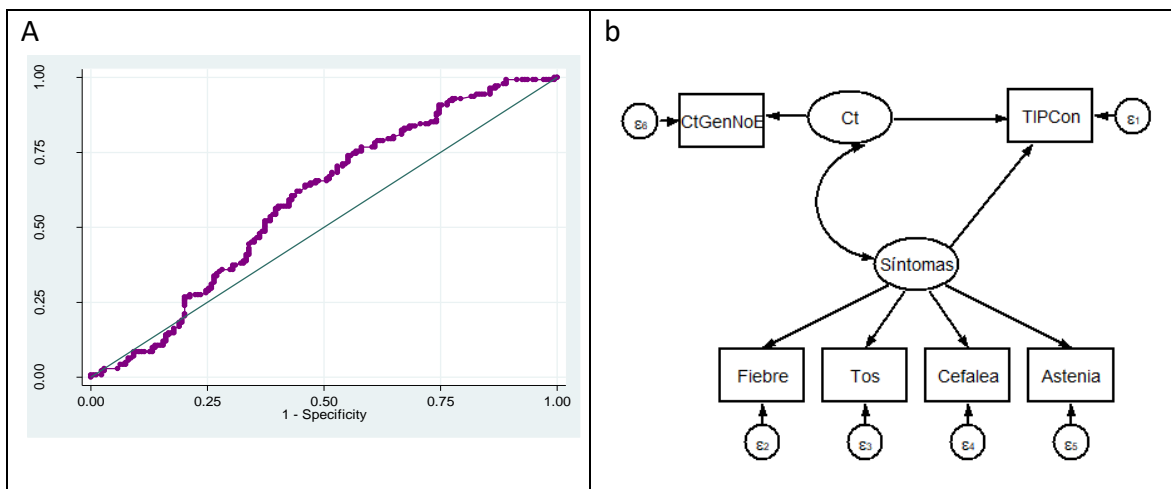


Figura 6: a) Sensibilidad y especificidad de TIPCon en función de los síntomas más prevalentes y la categoría de Ct. b) Algoritmo establecido sobre la base de los análisis realizados teniendo en cuenta el valor de Ct, los síntomas más frecuentes y el rango de TIPCon establecido en este estudio.

Por otro lado, en el caso de las personas asintomáticas o en fase pre sintomática (en nuestra experiencia esta población es entre el 15-20% de los casos de contagios detectados) quienes, tal como fue descripto por otros autores, su rol es fundamental para la diseminación de la infección, este algoritmo también es válido pudiendo asociar el valor del Ct y la TipCon. En este sentido, el grupo de asintomáticos presentó un valor medio TIPCon

igual a 0.23 (DE 0,092) y el 68% de esas personas (sin síntomas) presentaron un Ct menor a 30 (la mayoría en la categoría intermedia de nivel de excreción viral - entre 20 y 30 -). Cabe señalar que, en este grupo de pacientes, la asociación entre Ct y TIPCon fue altamente significativa ($p < 0,001$), mostrando que el 89% de las personas asintomáticas o pre sintomáticas con valores de $Ct > 30$ (nivel de excreción viral bajo) tuvieron tasas de contagio inferiores al 10%. Como se observa en la Figura 6b, el algoritmo construido en pacientes sintomáticos y asintomáticos tiene una estructura que facilita su utilidad y es confiable para la predicción del contagio individual.

En la figura 7, se muestra la tabla de valoración del riesgo de contagio alto, para ser utilizado en la ponderación de riesgo individual a sus contactos estrechos identificados. Esta tabla se propone implementarla en centros de testeos, consultorios febriles, guardias y centros de rastreo, con el fin de, por un lado, transmitir a las personas el riesgo individual de contagio que tienen y, por otro lado, transmitirles la importancia de la identificación de sus contactos estrechos para el aislamiento, seguimiento y cortar la cadena de transmisión.

		SINTOMAS			
		SI		NO	
Valoración del Riesgo de Contagio Alto entre los contactos estrechos declarados	Escala de Ct	1 Síntoma	Fiebre + tos/disnea con o sin otro síntoma		
		<20			
		20-30			
		>30			
<i>Modelo significativo de causalidad</i>		Riesgo alto	Riesgo medio	Riesgo bajo	

Figura 7: Tabla de valoración de riesgo de contagio alto

Es importante mencionar que, de acuerdo a experiencias locales, las pruebas de antígenos positivas se correlacionan con muestras de PCR con Ct menor a 30. Esta es información muy importante a tener en cuenta, ya que a nivel local y nacional la ampliación diagnóstica se está llevando a cabo principalmente por la disponibilidad de los test de antígenos.

Conclusiones

El presente trabajo proporciona información epidemiológica valiosa a los investigadores, rastreadores de contactos estrechos y a los efectores de salud para la toma de decisiones más personalizada, permitiendo identificar y profundizar el aislamiento y rastreo de los casos cuando su diseminación viral puede ser mayor. Esto permitiría profundizar en las acciones para actuar tempranamente en determinados casos.

Surge entonces una propuesta de herramienta o algoritmo que asocia el valor de Ct, síntomas más frecuentes y cantidad de contactos estrechos por cada paciente, en donde es fundamental poder evaluarlo para el abordaje individual. Como así también este algoritmo en personas asintomáticas, evaluando el valor de Ct y la cantidad de contactos estrechos. En este contexto social, donde la responsabilidad social individual está fuertemente afectada por la relajación en la adopción de las medidas de prevención de la población, poder fundamentar con evidencia científica la importancia del aislamiento estricto de los contactos estrechos, evaluando el riesgo de transmisión individual tanto en personas sintomáticas como asintomáticas, es fundamental. Esta herramienta pone en evidencia, una vez más, que es necesario, fundamentalmente en momentos de alta demanda, priorizar las acciones en las personas que mayor riesgo de transmisión tienen, sean ellas sintomáticas o asintomáticas.

Referencias

Adam D. A guide to R – the pandemic misunderstood metric. *Nature* 2020;583(7816) 346-48.

Bustin SA, Mueller R. Real-time reverse transcription PCR (qRT-PCR) and its potential use in clinical diagnosis. *Clin Sci (Lond)*. 2005;109:365–79.

Cislaghi C. R0, Rt, RDt che sono e che significano? Blog di Cesare Cislaghi: Come sta oggi in Italia la sanita? Disponibile all'indirizzo: <https://www.epiprev.it/r0-rt-rdtche-sono-e-che-significano>. 2020.

He et al., Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nat. Med.* 26, 672–675 (2020). doi: 10.1038/s41591-020-0869-5; pmid: 32296168

Rao S., Manissero D., Steele VR., Pareja J A Systematic Review of the Clinical Utility of Cycle Threshold Values in the Context of COVID-19 Sonia N. Rao . *Infect Dis Ther* <https://doi.org/10.1007/s40121-020-00324-3>. *Infect Dis Ther* (2020) 9:573–586

Salvatore PP, Dawson P, Wadhwa A, Rabold EM, Buono S, Dietrich EA, Reses HE, Vuong J, Pawloski L, Dasu T, Bhattacharyya S, Pevzner E, Hall AJ, Tate JE, Kirking HL. Epidemiological Correlates of PCR Cycle Threshold Values in the Detection of SARS-CoV-2. *Clin Infect Dis*. 2020 28:ciaa1469.

Sun Kaiyuan, Wang Wei, Gao Lidong, Wang Yan, Luo Kaiwei, Ren Lingshuang, Zhan Zhifei, Chen Xinghui, Zhao Shanlu, Huang Yiwei, Sun Qianlai, Liu Ziyan, Litvinova



Maria, Vespignani Alessandro, Ajelli Marco, Viboud Cécile, Yu Hongjie. Transmission heterogeneities, kinetics, and controllability of SARS-CoV-2
Science.2021 15; 371(6526): eabe2424

Tang Y-W, Schmitz JE, Persing DH, Stratton CW. Laboratory diagnosis of COVID-19: current issues and challenges. J Clin Microbiol. 2020;58(6): e00512–e520.