

## Seguimiento diagnóstico de pacientes infectados por SARS-CoV-2 variante DELTA: aportes para toma de decisiones y reconsideración de estrategias de control. 26-8-2021.

### Participantes en el estudio y en este informe:

**Ministerio de Salud de la provincia de Córdoba:** Gonzalo Castro, Paola Sicilia, María Laura Bolzon, Laura López, Ana Willington, Eugenio Cecheto, Ana Crinejo, Miguel Diaz y Gabriela Barbás.

**Instituto de Virología “Dr. J. M. Vanella” Facultad de Ciencias Médicas - Universidad Nacional de Córdoba:** Viviana Ré, María Belén Pisano.

### Marco teórico

Desde la aparición del coronavirus, causante del síndrome respiratorio agudo severo 2 (SARS-CoV-2), que causa la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19), se han caracterizado numerosas variantes virales. Estas surgen de la replicación y diversificación viral y la mayoría no tiene ningún efecto fenotípico. Sin embargo, han surgido algunas variantes de preocupación (VOC) (OMS 2021), que llevan sustituciones de aminoácidos distintivos en áreas clave de la proteína Spike que alteran algunas características del virus tales como: aumento de la transmisibilidad, evasión de la respuesta inmune natural o vacunal y susceptibilidad reducida a las terapias con anticuerpos monoclonales (OMS 2021).

Desde que la variante Delta fue detectada por primera vez en India, en donde se observó un gran impacto en las tasas de infección y mortalidad, y habiéndose identificado en mayo de 2021 como la variante dominante en el Reino Unido, esta VOC comenzó a ser estudiada con mayor detenimiento, incluso en nuestra región (Gisaid 2021).

Tal como ha ocurrido con el ingreso de otras VOC en nuestro medio, los nuevos desafíos que propone el virus van poniendo en reconsideración los protocolos de diagnóstico, de contención de la diseminación, de manejo de los contactos, las políticas de aislamiento y el manejo clínico de los pacientes.

Algunos estudios reportan que Delta estaría asociada a cargas virales más altas y a una excreción viral más prolongada. Por otra parte, si bien se ha reportado una mayor asociación de esta variante con las hospitalizaciones, muchos de estos estudios presentan limitaciones y deben ser exhaustivamente analizados para poder extrapolar los resultados a contextos



epidemiológicos y poblacionales diferentes (Sheik et al., 2021, Ong et al., 2021). Llamativamente, muchas comunicaciones reportan la eficacia de las vacunas tanto en la disminución de la severidad de la enfermedad como en la disminución de la carga viral (Ong et al., 2021; Chia et al., 2021).

Si bien actualmente, en la rutina diagnóstica de SARS-CoV-2, no se mide específicamente carga viral, el método molecular estándar para el diagnóstico de COVID-19 es la reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa (RT-PCR) en tiempo real (Tang et al., 2020), el cual genera el valor del ciclo umbral (Ct). El mismo representa el número de ciclos de amplificación necesarios para que el gen objetivo supere un nivel umbral de fluorescencia para que una muestra sea considerada como positiva. Por lo tanto, los valores de Ct están inversamente relacionados con la carga viral, esto es, valores de Ct bajos corresponden a valores altos de concentraciones de ARN viral, y pueden proporcionar mediciones semicuantitativas o un método indirecto para cuantificar el número de copias de ARN viral en la muestra.

Recientemente Ong et al. (2021), reportaron que Delta presenta mayores cargas virales, es decir, significativamente bajo valor de Ct en las PCRs y larga duración de valores de Ct  $\leq 30$  (duración media de 18 días para Delta y 13 días para virus wild-type).

El objetivo de este informe es aportar evidencias de la carga viral, medida indirectamente a través del valor de Ct, en el seguimiento realizado por PCR a partir de hisopado orofaríngeo, en los primeros pacientes infectados por SARS-CoV-2 variante Delta en Córdoba, Argentina.

## **Materiales y Métodos**

**Criterio de inclusión:** pacientes infectados con SARS-CoV-2 variante Delta en los que se haya tomado al menos un hisopado de seguimiento y control entre los 8 y 14 días desde el hisopado positivo en el momento del diagnóstico.

Se analizaron 39 muestras correspondientes a 16 pacientes y se registraron 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 (DisCoVery SARS-CoV-2 -RT-PCR Detection Kit).

## **Resultados**

En la Tabla 1 se muestran los registros de Ct obtenidos según los días de toma de la muestra de seguimiento a partir de la primera PCR positiva. Se observó que en el 93% (14/15) de los casos analizados entre los 8-11 días, los Cts aumentaron a valores mayores de 28 en el transcurso de los días, es decir, las cargas virales disminuyeron. Del total, el 92% (11/12) resultó negativo

por PCR luego de 8-14 días de seguimiento. Sólo un paciente presentó cargas virales elevadas luego de 14 días. Cuatro muestras presentaron Cts altos (28-37) entre los 8 y 10 días, no se contó con muestras posteriores.

**Tabla 1.** Resultados obtenidos mediante PCR en tiempo real de muestras de hisopados orofaríngeos del seguimiento clínico-epidemiológico de los pacientes infectados con SARS-CoV-2 – Delta.

Paciente	Sexo	Edad	PCR			
			PCR 1 (Ct)	PCR 2 (Ct 8-10ds)	PCR 3 (Ct 11-12ds)	PCR 4 (Ct 14ds)
1	F	31	21.3			NEG
2	M	32	30	30		NEG
3	F	27	23.5	NEG		NEG
4	F	29	21.9	34		NEG
5	F	42	24.8		37	NEG
6	M	35	21.1		24	25
7	F	18	21.2	NEG		
8	F	9	20		NEG	
9	F	18	34	NEG		
10	M	67	25.3		NEG	
11	F	33	33		NEG	
12	F	42	24.8		36	NEG
13	M	39	20.1	37		
14	F	15	21.6	32		
15	M	15	28	34.8		
16	F	13	24.2	28		

NEG: resultado negativo. No se registró amplificación de ARN de SARS-CoV-2.

## Discusión y conclusiones

Los resultados muestran que la mayoría de los pacientes presentaron una disminución de su carga viral y/o negativización de las PCRs entre los 10 y 14 días.

Sólo un paciente presentó cargas virales elevadas luego de 14 días. Las muestras correspondientes al mismo serán sometidas a aislamiento viral en cultivo celular para corroborar la presencia de virus infeccioso.

Cabe destacar que, al inicio de la pandemia, también se presentaron situaciones similares de pacientes infectados con SARS-CoV-2 (no VOC) que presentaban resultados prolongados positivos por PCR en las muestras obtenidas durante el seguimiento, y a quienes no se les daba el alta hasta que este ensayo resultara negativo. A lo largo del tiempo, y con la adquisición de conocimientos, se corroboró mediante cultivo celular que, a pesar de que un individuo presentara PCR positiva (aún con Ct<30), el virus se mantenía infeccioso hasta aproximadamente el 8vo día (Wolfe et al., 2020). Un estudio local realizado en colaboración entre el Ministerio de Salud de la Provincia y el Instituto de Virología “Dr. J. M. Vanella” demostró también este hallazgo y, por esa razón, se decidió cambiar la medida de aislamiento y alta de 14 días a 10 días (Informe 1-7-2020).

Hasta el momento, las evidencias aquí reportadas no sugieren un cambio de protocolo diferencial para el alta y aislamiento de los pacientes infectados con SARS-CoV-2 variante Delta.

A fin de obtener mayores evidencias y, reconsiderar las estrategias y políticas públicas de control del virus, continuaremos los estudios aumentando el tamaño muestral de pacientes en seguimiento y realizaremos estudios adicionales de infectividad viral en pacientes con detección prolongada de ARN viral infectados con VOC Delta.

**Agradecimiento:** al equipo de investigadores, rastreadores, equipo territorial y a todo el equipo de salud involucrado en el abordaje de la pandemia.

## Referencias

Campbell F, Archer B, Laurenson-Schafer H, et al. Increased transmissibility and global spread of SARS-CoV-2 variants of concern as at June 2021. *Euro Surveill* 2021; 26(24)

Chia PY, Xiang Ong SW, Chiew CJ, et al. Virological and serological kinetics of SARS-CoV-2 Delta variant vaccine-breakthrough infections: a multi-center cohort study. *medRxiv* 2021: 2021.07.28.21261295.

Gisaid. Tracking of Variants. Available at: <https://www.gisaid.org/hcov19-variants/>. Accessed August 13 2021.

Informe 1-7-2020. Respuesta frente a la pandemia por SARS-CoV-2 en Córdoba: detección de anticuerpos neutralizantes en individuos recuperados en el territorio de la provincia. Ministerio de Salud de la Provincia de Córdoba- Instituto de Virología “Dr. Vanella”, UNC.

Ong SWX<sup>a</sup>, et al. Clinical and virological features of SARS-CoV-2 variants of concern: a retrospective cohort study comparing B.1.1.7 (Alpha), B.1.315 (Beta), and B.1.617.2 (Delta). Clin Infect Dis 2021 Aug 23;ciab721. doi: 10.1093/cid/ciab721

Ong SWX<sup>b</sup>, Young BE, Lye DC. Lack of detail in population-level data impedes analysis of SARSCoV-2 variants of concern and clinical outcomes. Lancet Infect Dis 2021

Organización Mundial de la Salud (OMS). Tracking SARS-CoV-2 variants. <https://www.who.int/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/tracking-SARS-CoV-2-variants>. Acceso 3 de agosto 2021.

Sheikh A, McMenamin J, Taylor B, Robertson C, Public Health S, the EIIIC. SARS-CoV-2 Delta VOC in Scotland: demographics, risk of hospital admission, and vaccine effectiveness. Lancet 2021; 397(10293): 2461-2

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.