

Observaciones SEIMC en relación con la interpretación de la Ct- PCR de SARS-CoV-2

La detección de ARN de SARS-CoV-2 no supone necesariamente la presencia de virus infectivo en las muestras clínicas, sean éstas de la naturaleza que sean. Es cierto que algunos trabajos demuestran que existe una relación inversa entre la magnitud del ciclo umbral de positividad -*cycle threshold* (Ct)- y la probabilidad de recuperar virus infectivo a partir de muestras del tracto respiratorio^{1,2,3,4}. De acuerdo con estos datos, la guía de estrategia de detección precoz, vigilancia y control de COVID-19 del 25 de septiembre

(https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/COVID19_Estrategia_vigilancia_y_control_e_indicadores.pdf) del Ministerio de Sanidad indica que un Ct>30-35 se correspondería con la presencia de RNA viral en ausencia de virus infectivo⁵.

Estos trabajos se analizaron con detalle en el documento de 19/10/2020, "Organización del diagnóstico de SARS-CoV-2 y estrategias de optimización" <https://seimc.org/contenidos/documentoscientificos/recomendaciones/seimc-rc-2020-COVID19-OrganizacionDiagnostico.pdf>

Desde SEIMC se quieren hacer las siguientes observaciones:

- a) Las muestras que se utilizan para la detección de SARS-CoV-2 no son muestras homogéneas, a diferencia de las que se utilizan para otros ensayos cuantitativos de PCR en tiempo real (RT-PCR).
- b) No existen en la actualidad técnicas comerciales que incluyan estándares de cuantificación (ej. virus inactivado o plásmido/s que contienen la/s secuencia/s diana); las técnicas comerciales disponibles para la detección de SARS-CoV-2 son cualitativas, por lo tanto proporcionan tan sólo, a través del Ct, una estimación semicuantitativa de la carga viral.
- c) Existen diversos factores que Influyen en el valor del Ct que proporciona cualquier ensayo de RT-PCR. Siguiendo la secuencia temporal del procesamiento de una muestra cualquiera: (i) el hisopo utilizado para su obtención; (ii) el tipo (con inactivador o si él) y el volumen del medio de transporte utilizado; (iii) el tipo (ej. Nasal, nasofaríngea, salivar) y calidad de la muestra obtenida (celularidad), las condiciones de transporte, el tiempo de espera hasta su procesamiento y las condiciones de almacenamiento; (iv) el tiempo de vortexado; (v) el método y las condiciones de extracción de ácidos utilizado

(volumen de inicio de extracción, el volumen de elución de los ácidos nucleicos; (v), la plataforma de PCR en tiempo real que se utilice para la amplificación y detección de RNA viral, la/s diana/s de la técnica de amplificación, los fluoróforos con que se marcan las sondas, las líneas base de cada uno de los canales en cada experimento, y el número de ciclos del procedimiento.

- d) Los valores de Ct que proporcionan distintas RT-PCR comerciales en una muestra dada pueden ser diferentes, incluso cuando la secuencia diana de éstas es la misma (**variabilidad inter-prueba**). Incluso para una misma RT-PCR, el valor del Ct proporcionado por distintos laboratorios puede diferir (**variabilidad interlaboratorio**). No existen estándares universales para generar resultados comparables.
- e) En muestras de baja calidad (poca celularidad) el Ct puede no reflejar fielmente la carga viral presente en ese compartimento, independientemente de la RT-PCR comercial empleada; sólo el “delta Ct”, esto es la diferencia entre el Ct de la secuencia diana y el Ct de una secuencia de un gen celular (control “housekeeping”), como RNAsa P o beta-glucuronidasa, provee una información más precisa sobre la carga viral real presente en la muestra⁶.
- f) Los rangos de valores de Ct que se asocian a la presencia de virus infeccioso varían según la técnica de RT-PCR empleada, y posiblemente de la variante del SARS-CoV-2 y del estado de vacunación del individuo.

Puesto que el conocimiento del valor del Ct puede conducir a inferencias incorrectas relativas a la “infecciosidad” del individuo, SEIMC considera que la provisión de este no está plenamente justificada y no considera la obligatoriedad de expresar los valores o rangos del Ct.

Referencias

1. Liu Y, Yan LM, Wan L, Xiang TX, Le A, Liu JM, et al. Viral dynamics in mild and severe cases of COVID-19 [Internet]. Vol. 20, The Lancet Infectious Diseases. Lancet Publishing Group; 2020 [cited 2020 Sep 30]. p. 656–7. Available from: <https://doi.org/10.1016/S2213->
2. Bullard J, Dust K, Funk D, Strong JE, Alexander D, Garnett L, Boodman C, et al. Predicting infectious SARS-CoV-2 from diagnostic samples. Clin Infect Dis. 2020 May 22:ciaa638. doi: 10.1093/cid/ciaa638
3. La Scola B, Le Bideau M, Andreani J, Hoang VT, Grimaldier C, Colson P, et al. Viral RNA load as determined by cell culture as a management tool for discharge of SARS-CoV-2 patients from infectious disease wards. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2020 Jun;39(6):1059-1061. doi: 10.1007/s10096-020-03913-9.
4. Singanayagam A, Patel M, Charlett A, Bernal JL, Saliba V, Ellis J, et al. Duration of infectiousness and correlation with RT-PCR cycle threshold values in cases of COVID-19, England, January to May 2020. Eurosurveillance [Internet]. 2020

[cited 2020 Sep 30];25(32):1. Available from:
[/pmc/articles/PMC7427302/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/327427302/)

5. Ministerio de Sanidad Consumo y Bienestar Social. Estrategia de detección precoz, vigilancia y control de COVID-19. (25/09/2020).
6. Albert E, Ferrer B, Torres I, Serrano A, Alcaraz MJ, Buesa J, Solano C, Colomina J, Bueno F, Huntley D, Olea B, Valdivia A, Navarro D. Amplification of human β -glucuronidase gene for appraising the accuracy of negative SARS-CoV-2 RT-PCR results in upper respiratory tract specimens. *J Med Virol* 2020 Jun 2:10.1002/jmv.26112. doi: 10.1002/jmv.26112

Revisores

Este documento ha sido preparado y revisado por Antonio Aguilera, Carmen Ezpeleta, Dolores Folgueira, Juan Carlos Galán, Miguel García Deltoro, Diego Garcia Martinez-Artola, Federico García, Concepción Gimeno, Santiago Moreno, Maria Angeles Marcos, Ana Martinez-Sapiña, David Navarro, Antonio Rivero y Jordi Vila.