

Caracterización de los valores de ciclo umbral en oleadas de COVID-19 en Villa Clara, Cuba

Characterization of threshold cycle values in waves of COVID-19 in the province of Villa Clara, Cuba

María de Lourdes Sánchez Álvarez^{1*} <https://orcid.org/0000-0003-3481-7564>

Hilda D. Roque de Escobar Martín¹ <https://orcid.org/0000-0002-6635-6726>

Geni Hernández González² <https://orcid.org/0000-0003-3596-3969>

Rafael Abreu Duarte¹ <https://orcid.org/0000-0003-4784-8546>

Alina Choy Marrero³ <https://orcid.org/0000-0002-0726-2609>

Juan José Pulido López² <https://orcid.org/0000-0003-1226-4866>

¹Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología, Departamento de Microbiología. Villa Clara, Cuba.

²Dirección Provincial de Salud, Cuba.

³Hospital Provincial Ginecobstétrico Docente Mariana Grajales. Villa Clara, Cuba.

*Autor para la correspondencia: mlourdessa@infomed.sld.cu

RESUMEN

Introducción: La COVID-19 se caracteriza por un incremento exponencial de casos, llamado oleadas. El SARS-CoV-2 es el agente causal y se diagnostica mediante RT-PCR. El resultado positivo de esta prueba se expresa en valores de ciclo umbral. En

Cuba, hasta el momento de esta investigación, no se han encontrado estudios que asocien los valores de ciclo umbral con las oleadas.

Objetivo: Caracterizar los valores de ciclo umbral en oleadas de COVID-19 en Villa Clara, Cuba.

Métodos: Estudio observacional descriptivo transversal que comprendió 1679 muestras positivas por RT-PCR-SARS-CoV-2 en tiempo real, pertenecientes a pacientes sintomáticos y asintomáticos en Villa Clara, de marzo 2020 a febrero 2021. Se realizaron los análisis de datos mediante SPSS versión 15.

Resultados: Ocurrieron tres oleadas con picos máximos en abril 2020, con frecuencia de 217 (12,9 %) casos; agosto 2020 con 40 (2,4 %), y enero 2021 con 1422 (84,7 %). La media de la primera oleada fue 29,2 y la mediana 32,0; en la segunda, la media de 26,6 y la mediana de 27,0. La tercera oleada tuvo el menor valor de la media de 25,8 y de la mediana de 26,5. Las medianas de las distribuciones de Ct en las tres oleadas variaron con un nivel de significación del 5 % [prueba de la mediana para muestras independientes $p < 0,05$]. En noviembre 2020 la mediana de los valores de ciclo umbral fue de $< 23,2$, lo que coincide con el inicio de la tercera oleada, la de mayor magnitud.

Conclusiones: El valor decreciente de la mediana de ciclo umbral antecede los meses de las oleadas, con énfasis en la tercera.

Palabras clave: RT-PCR SARS-CoV-2; ciclo umbral; oleadas.

ABSTRACT

Introduction: In COVID-19 there is an exponential increase in cases called waves, the causative agent, SARS-CoV-2, is diagnosed by RT-PCR, the positive result of this test is expressed in threshold cycle values. In Cuba, no studies have been carried out that relate the value of the threshold cycle with the waves.

Objective: To characterize of threshold cycle values in waves of COVID-19 in the province of Villa Clara

Methods: Cross-sectional descriptive observational study, comprised 1679 positive samples by RT-PCR-SARS-CoV-2 in real time belonging to symptomatic and asymptomatic patients from Villa Clara, from March 2020 to February 2021. Data analysis was carried out using SPSS. version 15.

Results: Three waves occurred with maximum peaks in April 2020 with a frequency of 217 (12.9%) cases, August 2020, with 40 (2.4%), and January 2021 with 1,422 (84.7%). The first wave the mean was 29.2 and the median 32.0, the second the mean 26.6 and the median 27.0. The third wave had the lowest value of the mean 25.8 and the median 26.5. The medians of the Ct distributions in the three waves varied with a significance level of 5% [Median test for independent samples $p < 0.05$]. In the month of November, 50% of the patients presented a Ct < 23.2 , coinciding with the beginning of the third wave, the one with the highest magnitude.

Conclusions: The decreasing value of the median of the threshold cycle preceded the months of the waves, with emphasis on the third.

Keywords: RT-PCR SARS-CoV-2; threshold cycle; waves.

Recibido: 11/06/2023

Aceptado: 18/12/2023

Introducción

El diagnóstico estándar recomendado por la Organización Mundial de la Salud (OMS), para detectar y confirmar los casos de infección por el SARS-CoV-2, es la prueba de reacción en cadena de la polimerasa con reverso transcriptasa (RT-PCR, por sus siglas en inglés) en tiempo real.⁽¹⁾

En Cuba, inicialmente, se contó con tres laboratorios destinados al diagnóstico molecular en los Centro Provinciales de Higiene Epidemiología y Microbiología (CPHEM) de La Habana, Villa Clara y Santiago de Cuba. Posteriormente, la red de laboratorios se amplió hasta contar con uno en cada provincia, liderada por las autoridades gubernamentales y de salud cubanas que tuvieron como institución pionera y de referencia al Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí (IPK).^(2,3)

Existen diferentes dianas de genes para la detección de SARS-CoV-2 y varían según el protocolo de la región o institución donde se realiza e incluyen: genes de nucleocápside (N), envoltura (E), espiga (S), ARN polimerasa dependiente de ARN (RdRP) y marco de lectura abierta 1ab (ORF1ab). El Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) desarrolló un kit que identifica tres regiones del gen de la nucleocápside, mientras que el ensayo de la OMS se dirige a los genes RdRP y E.⁽¹⁾

Los resultados del RT-PCR en tiempo real se pueden informar como valores de Ct (abreviatura del término en inglés, *cycle threshold* o ciclo umbral), que indica el número de ciclos en el que se detecta por fluorescencia la presencia de material genético viral.^(4,5,6) Cuanto mayor sea el número de copias de ácido nucleico iniciales de la muestra, se observará antes un aumento significativo de fluorescencia, lo que puede determinar la magnitud de la infección: mientras menor sea el número de ciclos, mayor será la carga infectiva asociada a la infección viral.⁽⁶⁾

El Ct es el valor de las mediciones semicuantitativas o indirectas de las concentraciones de ARN viral: valores bajos de Ct corresponden a concentraciones altas de ARN viral.^(7,8,9) Los valores de Ct muestran una fuerte relación inversa con la concentración de ácido nucleico viral en la muestra, al inicio de la reacción; por tanto, con la transmisibilidad y la infectividad.^(10,11,12)

Los valores de Ct de las pruebas de RT-PCR de SARS-CoV-2 varían ampliamente con el tiempo, pueden servir como un marcador útil para evaluar el progreso de la pandemia y tener un impacto en las medidas de Salud Pública, en el control de las infecciones y en el manejo clínico de pacientes infectados.⁽¹³⁾ También, tienen el potencial de usarse ampliamente en programas de pruebas como un sistema de

“alerta temprana”, para detectar cambios en la carga infecciosa y por lo tanto, en la transmisión.⁽¹⁴⁾

En Cuba, no se constatan estudios acerca de los valores comunitarios de Ct, por lo que resulta imprescindible la vigilancia a nivel local, pues dicho resultado puede ayudar a la toma de decisiones en el contexto clínico y epidemiológico del paciente; para ello, la presente investigación tiene como objetivo, caracterizar los valores del ciclo umbral en las diferentes oleadas de la COVID-19, en el primer año de la pandemia en la provincia de Villa Clara.

Métodos

Se realizó un estudio observacional y descriptivo de corte transversal, relacionado con los valores de ciclo umbral en las diferentes oleadas de COVID-19, en el Laboratorio de Biología Molecular de Villa Clara (LBMVC), en el período comprendido de marzo de 2020 a febrero de 2021.

La población de estudio estuvo constituida por las 1679 muestras de pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión. El estudio incluyó 792 (47,2 %) personas asintomáticas y 887 (52,8 %) sintomáticas.

Los criterios de inclusión considerados fueron:

- Muestras procedentes de pacientes asintomáticos y sintomáticos independientes de su evolución clínica.
- Pacientes sintomáticos en los primeros cinco días del inicio de la enfermedad.
- Pacientes asintomáticos en los primeros cinco días del contacto con el caso positivo.

- Muestras procesadas por los Kit de sondas y cebadores de la OPS, estuche comercial RIDA ® GENE SARS- CoV- 2
- Confirmados como positivos por RT-PCR-SARS-CoV-2 en tiempo real mediante Modular Dx Kit SARS- CoV-2 (COVID-19) RdRP, considerando que el resultado fue positivo cuando el Ct era ≤ 40 y negativo cuando el valor Ct fue > 40 .

Procedimientos

Se realizó la extracción del ARN de las muestras clínicas de hisopado nasofaríngeo de pacientes con sospecha de COVID-19, mediante los estuches comerciales QIAamp® 96virus QIAcube HT Kit (QIAGEN) y CEA-NANO+ RNA 3.0, siguiendo las indicaciones del fabricante. El genoma obtenido se almacenó de 4-8 °C hasta la realización del ensayo. Se utilizó el mismo producto extraído de cada muestra para todas las reacciones de RT-PCR analizadas en este artículo.

Se siguieron las buenas prácticas de laboratorio, al incluirse la amplificación de un gen control humano para identificar la viabilidad de la muestra, inhibidores de PCR, y para evaluar la eficiencia de la extracción del ARN, con este fin se utilizó el gen de la beta Actina.

Algoritmo de detección y amplificación molecular

Inicialmente, se desarrolló el método recomendado por la Organización Panamericana de la Salud (OPS).^(15,16) Las enzimas empleadas fueron la SuperScript™ III Platinum™ One-Step qRT-PCR System (Invitrogen) y la Quantifast.

Posteriormente, se hizo uso del estuche comercial RIDA ® GENE SARS-CoV-2, que identifica una región del gen E que se encuentra a 200 pares de base en la dirección 3' de la región inespecífica del gen E de SARS-CoV-2 publicada por la OMS. Este estuche proporcionaba sus propios componentes (cebadores, sondas y otros componentes de la master mix). El termociclador empleado fue el Rotor-Gene® Q

MDx y la programación de los ciclajes se realizó según las indicaciones del fabricante.

El análisis de los datos se hizo mediante el SPSS versión 15. Se calculó la frecuencia absoluta por días para identificar las oleadas. A cada oleada se le calculó la media, mediana y la desviación típica según intervalos de valores de Ct; se calculó la media, la mediana, la desviación típica, mínimo y máximo también para cada mes, según valores de Ct. Todos los procedimientos del estudio se desarrollaron según los principios establecidos por la declaración de Helsinki.

Resultados

En el período ocurrieron tres oleadas, la primera del 11 de marzo al 8 de junio de 2020, con un pico máximo el 15 de abril y una frecuencia absoluta de 217 (12,9 %); la segunda y menor fue desde el 9 de junio al 3 de octubre, con pico máximo el 6 de agosto y una frecuencia absoluta de 40 (2,4 %). La tercera y mayor, en cuanto a número de casos y tiempo de duración, ocurrió desde el 4 de octubre hasta el 28 de febrero de 2021, con un pico máximo el 27 de enero y una frecuencia absoluta de 1422 (84,7 %) (fig. 1)

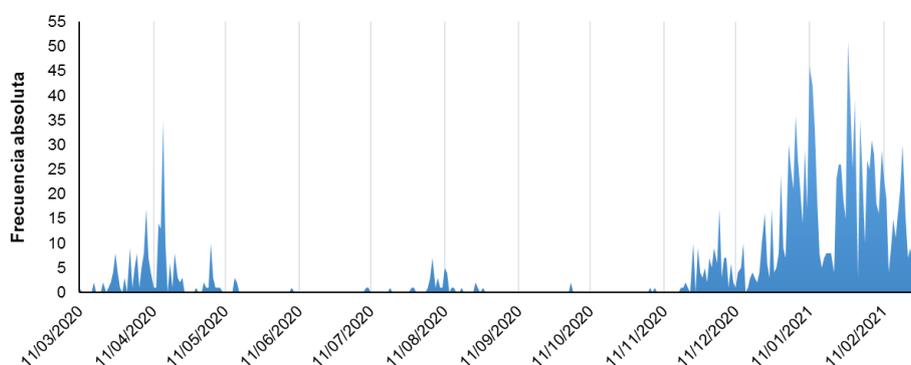


Fig. 1 – Distribución de casos de SARS CoV-2 en Villa Clara.

En la primera oleada los valores de Ct oscilaron de 11,2 a 38,6 con un promedio de $29,2 \pm 6,5$. La mediana se encontraba por encima de 32,0. En la segunda oleada los valores de Ct oscilaron de 10,0 a 34,4 con un promedio de $26,6 \pm 5,0$. La mediana de Ct fue 27,0. En la tercera oleada oscilaron de 10,9 a 36,4 con un promedio de $25,8 \pm 4,8$. La mediana del Ct fue de 26,5.

La última oleada se caracterizó por tener la menor mediana, promedio y dispersión de los valores de Ct. Al comparar las tres oleadas, se concluye que las medianas de las distribuciones de Ct varían con un nivel de significación del 5 % [prueba de la mediana para muestras independientes $p < 0.05$] (fig. 2).

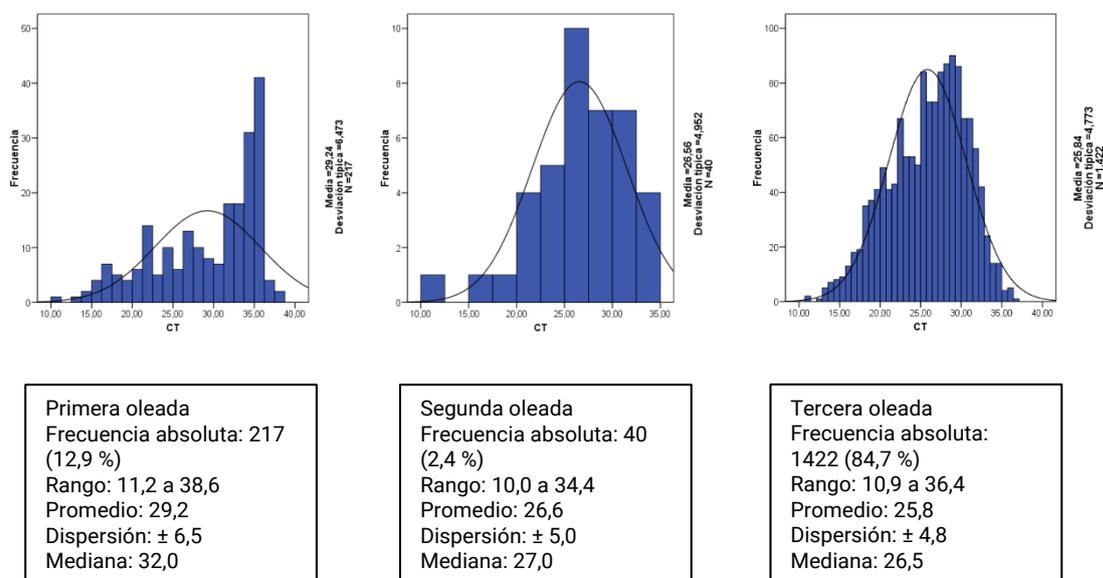


Fig. 2 – Caracterización de las tres oleadas según valores de ciclo umbral.

En la figura 3 se muestran los valores de la mediana de Ct en los 12 meses del primer año pandémico. En los meses precedentes a cada oleada hubo menor valor de los Ct, valores que se estabilizaron en el transcurso de cada oleada. En cuanto a la disminución de los valores de Ct que precedieron a las oleadas, destaca en noviembre el menor valor de la mediana Ct $< 23,2$ y el menor valor de la media de

Ct = 23,4 en los 12 meses de estudio, lo que coincide con el inicio de la tercera oleada, la de mayor magnitud comparada con las dos anteriores.

Los menores valores mínimos de los Ct coincidieron con los tres meses de ocurrencia de los picos máximos de las tres oleadas, en abril 11,2, en agosto 10,0 y en enero 11,3.

En el presente estudio, las tres oleadas epidémicas se precedieron por una disminución de los valores de la mediana de Ct.

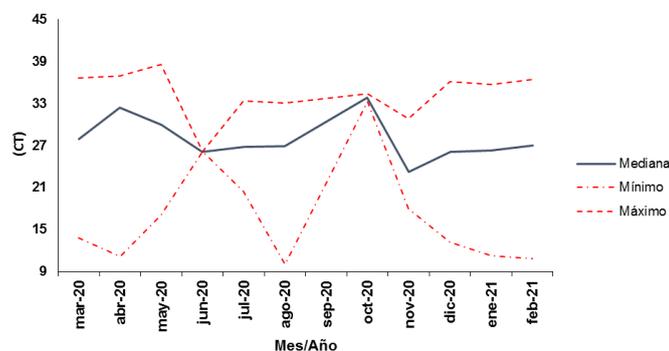


Fig. 3 – Distribución de la mediana de valores de umbral de ciclo según meses.

Discusión

Hay y otros⁽¹⁷⁾ en una investigación citan a otros autores quienes refieren que la variación de los valores de Ct en el transcurso de la pandemia actual de SARS-CoV-2 es algo inexplicable, observada en muchos lugares en alerta. Sin embargo, este los autores refiere que esto puede explicarse como un fenómeno epidemiológico, sin invocar ningún cambio en la cinética viral o en las prácticas de prueba a nivel individual.

En un estudio realizado por Yin y otros⁽¹³⁾ en Bruselas, Bélgica, encuentran que las oleadas están precedidas por una drástica disminución de la mediana de los valores de Ct, lo cual coincide con la caracterización que presentó la mediana de Ct, previo a las tres oleadas en Villa Clara, Cuba.

Una epidemia en crecimiento tiene una alta proporción de individuos recientemente infectados con cargas virales altas (valores de Ct bajos), mientras que una epidemia en declive tendrá en la población más individuos con infecciones más antiguas, y, por lo tanto, cargas virales más bajas (valores de Ct altos). La relación entre las cargas virales a nivel comunitario y el estado de una epidemia revela importantes implicaciones y oportunidades para interpretar los datos de vigilancia virológica.⁽¹⁷⁾

La literatura refiere, que las disminuciones en la distribución de los valores de Ct en una población, medidos por el valor mediano de Ct, pueden preceder a un aumento local en las tasas de transmisión o positividad en ella.^(5,14) Esto coincide con el presente estudio, fundamentalmente en la tercera oleada que estuvo precedida por el menor valor de la mediana en el año de estudio.

Coincide también con Lippi y otros,⁽¹⁸⁾ quienes afirman, que el valor de Ct es un predictor significativo de la aparición y progresión de brotes locales de SARS-CoV-2. Los hallazgos de este estudio también están en concordancia con lo publicado por Tso y otros,⁽⁶⁾ quienes refieren que una mayor proporción de valores bajos de Ct en muestras de una población, puede reflejar un crecimiento epidémico en una comunidad.

Un estudio realizado en Reino Unido⁽¹⁴⁾ describe que si bien las disminuciones en los valores de Ct en julio y principios de agosto 2020, preceden a los aumentos en las tasas de positividad en Inglaterra, las disminuciones posteriores de Ct a principios de diciembre coinciden, más que preceden, a aumentos en la positividad, debido a la expansión de B.1.1.7. Esto que puede reflejar potencialmente una transmisión más rápida de B.1.1.7, y una mayor sensibilidad a los cambios en la distribución de Ct, cuando el número de casos es pequeño. En ambos periodos los aumentos posteriores de Ct reflejan una estabilización y luego, una disminución de la positividad.

Además, otros autores encuentran relación entre la disminución de los valores de Ct y el aumento de casos, con nuevas variantes del virus SARS-CoV-2, como las variantes Alfa, Beta y Delta, que en todo el mundo se asocian con oleadas de infecciones.⁽¹⁹⁾

En un estudio realizado por Parra-Ortega y otros⁽¹⁹⁾ en México concluyen que los valores de Ct, de los pacientes positivos a la infección por SARS-CoV-2 variante Ómicron, es mucho menor que los valores identificados en el año 2020, tanto en pacientes pediátricos como adultos. En Bélgica, Yin y otros⁽¹³⁾ refieren que para anticiparse a la propagación descontrolada de SARS-CoV-2 los laboratorios proporcionan información valiosa en tiempo real, sobre las tendencias de incidencia de la COVID-19. Un paso más, sería establecer que los laboratorios de microbiología detectaran y comunicaran rápidamente eventos anormales, como son: un aumento repentino o la aparición de variantes de preocupación, sin el retraso que resulta enviar muestras a las plataformas centrales de secuenciación.

La presencia de variantes SARS-CoV-2, como la causa del aumento de casos y la disminución de los valores de Ct, informada por varios investigadores^(13,14,19) no coincide con esta investigación, donde en el periodo de estudio circuló la variante D614G de la original de Wuhan.⁽²⁰⁾

La afirmación anterior está avalada por los resultados de vigilancia genómica, que sistemáticamente se realiza a los casos positivos detectados en el país, en el Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí (IPK), que es el Centro Nacional de Referencia en Cuba.

En este estudio, los valores de Ct agrupados en media, mediana, y los valores mínimos, indicaron periodos de oleadas y periodos de baja incidencia de casos, incluso alertó la llegada de las tres oleadas, con énfasis en la tercera. A medida que se observaba el movimiento a la disminución de los valores del Ct de los casos positivos que se diagnosticaban, se comunicaba a las autoridades de salud (director provincial, jefe de asistencia médica y director del CPHEM), la espera de un incremento significativo de casos, por el aumento de la carga viral comunitaria.

Esto concuerda con la bibliografía revisada, que informa como la tendencia de valores de Ct de RT-PCR de SARS-CoV-2 en una población puede proporcionar una medida útil de la dinámica de COVID-19 en las comunidades, pudiéndose predecir las tendencias epidémicas.^(5,12)

El hecho de que la tercera oleada haya mostrado la menor dispersión de los datos, menor valor del promedio y menor mediana del Ct, justifica que haya sido la mayor oleada, teniendo en cuenta que a menor valor del Ct mayor riesgo de infección. En concordancia con Scola y otros,⁽¹¹⁾ en un estudio realizado en el Instituto Hospitalario Universitario *Méditerranée Infection*, Marsella (centro de referencia para las enfermedades altamente infecciosas del sureste de Francia), observaron una fuerte correlación entre el valor de Ct y la infectividad de la muestra en un modelo de cultivo celular, la tasa de positividad del cultivo disminuyó progresivamente de acuerdo con los valores de Ct para alcanzar el 12 % con un Ct. de 33 y no se obtuvieron cultivos en muestras con Ct > 34.

También Jaafar y otros,⁽²¹⁾ en un estudio realizado en Francia, observaron que el Ct = 25 hasta el 70% de los pacientes, permanecen positivos en cultivo y que, a Ct = 30, este valor baja al 20 %.

Los resultados de la RT-PCR en tiempo real son generalmente informados al médico como positivo o negativo. Sin embargo, Tom y otros⁽²²⁾ sugieren que informar este valor de Ct, puede ayudar en la interpretación y decisiones, debido a que el Ct proporciona información valiosa sobre la cantidad de virus ARN en las muestras. El valor de Ct muy alto, representa la presencia de muy bajas copias de ARN viral.

Otros autores también han relacionado el valor de Ct con la carga viral. Kissler y otros⁽²³⁾ describen que, un pico de Ct más bajo fue ligeramente, más frecuente en infecciones con la variante Delta, que en aquellas con la variante Alfa o variantes que no son de interés o preocupación. También Zou y otros⁽²⁴⁾ hallaron que se detectaron cargas virales más altas (inversamente relacionadas con el valor de Ct) poco después del inicio de los síntomas, y detectaron cargas virales más altas en la nariz que en la garganta.

La disminución de los valores de Ct puede usarse como un marcador temprano de una ola epidémica.⁽¹⁴⁾

También se han realizado estudios, como el de Romero Gómez y otros,⁽²⁵⁾ concluyeron que los valores de Ct no pueden utilizarse como herramienta única

para identificar a aquellos pacientes que pueden ser infecciosos a pesar de una PCR positiva para SARS-CoV-2.

La RT-PCR tiene una limitación importante pues, no distingue entre virus infecciosos y no infecciosos; es el cultivo viral la técnica que lo diferencia, pero tiene el inconveniente que requiere de una instalación de bioseguridad de nivel 3; el cultivo viral no se recomienda de rutina.^(25,26)

Tso y otros⁽⁶⁾ plantean, que a pesar de las limitaciones en el uso de valores de Ct para la atención de pacientes individuales, las distribuciones poblacionales de los valores de Ct pueden ser indicadores útiles para el anuncio de brotes locales.

Por otra parte, el uso de Ct relacionado con la carga viral ya se había realizado en el 2014 por Memish y otros⁽²⁷⁾ en una investigación en Arabia Saudita, mediante los valores de Ct de RT-PCR en tiempo real del coronavirus del síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS-CoV). Estos autores realizaron una medición de la carga viral en una variedad de muestras del tracto respiratorio obtenidas de casos confirmados de infección por MERS-CoV. Determinaron mediante los valores de Ct, qué sitio del tracto respiratorio producía niveles más altos del virus, y establecieron las comparaciones de tipos de muestras clínicas para el rendimiento de la carga del MERS-CoV y de la fracción del genoma del MERS-CoV.

Los modelos matemáticos son herramientas poderosas para evaluar la efectividad potencial de diferentes estrategias de control, pero se basan en estimaciones de infectividad a nivel de población y otros parámetros. Sin embargo, existen pocos estudios de vigilancia de este tipo en la comunidad, que incluyan a personas con y sin síntomas.⁽¹⁵⁾ La mayoría de los estudios, además, se basan en estimaciones “promedio” del porcentaje de infección asintomática, independientemente de las características y la carga viral, y no han cuantificado la variación temporal en estos parámetros, clave para los modelos matemáticos comunitarios.⁽²⁸⁾ Los autores del presente estudio sugieren incluir los valores de Ct comunitarios en combinación con los modelos matemáticos, lo que fortalecería los pronósticos para epidemias futuras.

Existen factores que pueden causar variaciones en los valores del Ct, los que constituyen limitaciones en su interpretación. Se ha observado, que a menores valores del Ct, mayores probabilidades de sufrir desenlaces adversos.^(29,30,31) En la investigación realizada existieron diferencias significativas entre pacientes asintomáticos y sintomáticos, en estos últimos predominaron los menores valores de Ct. La colecta, transportación y conservación de la muestra son elementos claves de la fase preanalítica, que pueden interferir en la variación del Ct, declarados en los criterios de inclusión.

Otra limitación, es el empleo de diferentes estuches comerciales para la extracción de ácidos nucleicos: el estuche CEA-NANO + RNA3.0 validado en el IPK, con una sensibilidad y especificidad de 100 %, comparado con el Allsheng.⁽³²⁾ El otro estuche utilizado fue el Qiamp 96 Virus que garantiza rendimientos de ARN de alta calidad, libre de contaminantes e inhibidores.⁽³³⁾ Es conocido que el empleo de diferentes estuches de amplificación puede causar variaciones en los valores de Ct, aunque fueron utilizados en la investigación según la validación realizada por los fabricantes los que referían una sensibilidad y especificidad del 100% (RIDA ® GENE SARS-CoV-2 y Light Mix RdRP).^(34,35)

El uso de diferentes dianas moleculares es otra de las limitantes. Estudios realizados han demostrado la alta sensibilidad al utilizar las dianas E y RdRP.⁽¹⁵⁾

Esta investigación tuvo como fortalezas que todas las muestras se procesaron en LBMVC por personal calificado y entrenado; se utilizaron protocolos de prueba estandarizados; todas las muestras se obtuvieron de la nasofaringe; incluyeron muestras recolectadas de toda la provincia; la inclusión de todos los casos positivos en el período del estudio, y el tamaño de la muestra. Todo ello proporciona robustez de los resultados, al establecer comparaciones de los valores estadísticos de Ct comunitario y arribar a conclusiones en el transcurso del año estudiado.

En Cuba, en noviembre 2020, las medidas de confinamiento y cierre de aeropuertos se flexibilizaron por la necesidad de mantener la actividad productiva y de servicios en todos los sectores de la economía. A partir del arribo al país de viajeros enfermos con la COVID-19, que no en todos los casos tuvieron un comportamiento

responsable al llegar a la comunidad, en el país ocurrió una nueva ola de contagios que tuvo sus inicios a finales del mes de noviembre 2020. Por esto, se decidió retroceder a la fase de transmisión autóctona limitada a 63 municipios del país. El 15 de enero del 2021, Villa Clara tenía cuatro municipios en la fase de transmisión autóctona: Santa Clara, Sagua la Grande, Camajuaní y Ranchuelo.

Lo anterior estuvo directamente relacionado con la disminución de la mediana de los valores de Ct, que comenzaron a decrecer en el mes de noviembre en la provincia de Villa Clara, y el incremento de casos que ocasionó la tercera oleada del presente estudio.

Walker y otros⁽³⁵⁾ estimulan investigar si los resultados continuos de Ct pueden proporcionar mayor poder y conducir a una detección, significativamente más temprana, de futuros aumentos de positividad, particularmente, dentro de pequeñas áreas geográficas.

Cuba cuenta actualmente, con una amplia red de LBM para el diagnóstico virológico. Estos laboratorios, en futuros eventos epidémicos, pudieran actuar coordinadamente no solo como diagnosticadores de agentes infecciosos, sino también como agentes predictores de tendencias epidémicas, utilizando las variaciones de Ct en la comunidad correspondiente en cada área geográfica.

Se concluye que en el primer año pandémico en Villa Clara ocurrieron tres oleadas. La tercera oleada se caracterizó por presentar el mayor número de casos, el menor valor del promedio del Ct, y la menor mediana. Las oleadas estuvieron precedidas por una disminución de la mediana de los valores de ciclo umbral. A pesar de las limitaciones del estudio, se sugiere tener en cuenta los valores de Ct como una herramienta útil para futuros eventos epidemiológicos.

Referencias bibliográficas

1. Hogan CA, Huang C, Sahoo MK, Wang H, Jiang B, Sibai M, *et al.* Strand-specific reverse transcription PCR for detection of replicating SARS-CoV-2. *Emerg Infect Dis.* 2021 Feb [acceso 18/02/2022];27(2):[aprox. 3 pant.]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7853532/>
2. Mas Bermejo P, Sánchez Valdés L, Somarriba López L, Valdivia Onega NC, Vidal Ledo MJ, Alfonso Sánchez I, *et al.* Equidad y respuesta del Sistema Nacional de Salud de Cuba ante la COVID-19 *Rev Panam Salud Publica.* 2020 [acceso 18/02/2022];44:e138. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7737847/>
3. Ponce Rey L, Alonso del Rivero Antigua M, Resik Aguirre S. Contribución de la Facultad de Biología de la Universidad de La Habana en el diagnóstico molecular del SARS-CoV-2 en el IPK. *Rev Cubana Med Trop.* 2022 Ago [acceso 25/08/2023];74(2):e863. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602022000200017&lng=es.
4. Cabrera KLL, Ordóñez K, Sierra FA. Revisión rápida sobre la utilidad del umbral de ciclos de la RT-PCR en pacientes con sospecha de infección por SARS-CoV-2. Colombia: Instituto de Evaluación Tecnológica en Salud – IETS;2020 [acceso 22/02/2022]. Disponible en: [https://www.iets.org.co/Archivos/18.RSrapida_Utilidad_Ct_en_RT-PCRpara_COVID-19\(VA\).pdf](https://www.iets.org.co/Archivos/18.RSrapida_Utilidad_Ct_en_RT-PCRpara_COVID-19(VA).pdf)
5. Abreu Duarte R, Sánchez Álvarez MdeL, González Lorenzo L, Delgado Cura NR, Rivero Pérez YF, Sánchez Padrón G. Aspectos relacionados con la toma de muestra en la detección de SARS-CoV-2 en Villa Clara. *Acta Méd Centro.* 2022 [acceso 22/12/2022];16(4):[aprox. 10 pant.]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2709-79272022000400738
6. Tso C, Garikipati A, Green-Saxena A, Mao Q, Das R. Correlation of population SARS-CoV-2 cycle threshold values to local disease dynamics: exploratory

observational study. Public Health Surv [Internet]. 2021 [citado 5 Feb 2022];7:[aprox. 1 p.]. Disponible en: https://web.archive.org/web/20210716013305id_/https://publichealth.jmir.org/2021/6/e28265/PDF

7. Borrego Moreno JC. Factores clínico-epidemiológicos relacionados con la carga viral de SARS-CoV-2, identificada por valor de ciclo umbral [tesis doctoral]. México: Universidad autónoma de Sinaloa; 2023 [acceso 26/05/2023]. Disponible en: http://repositorio.uas.edu.mx/xmlui/handle/DGB_UAS/220

8. Quintana S, Giustina S, Belmonte JM, Di Gerónimo VM, Fedele S, Sanz Y, *et al*. Estudio del valor de Ct y el polimorfismo D/I del gen ECA1 en la respuesta al SARS-COV-2. Rev Bioq Patol Clín. 2023 [acceso 26/05/2023];87(1):[aprox. 4 pant.]. Disponible en: <http://revistabypc.org.ar/index.php/bypc/article/view/239>.

9. McNaughton CD, Adams NM, Hirschie Johnson C, Ward MJ, Schmitz JE, Lasko T A. Diurnal variation in SARS-CoV-2 PCR test results: test accuracy may vary by time of day. J Biological Rhythms. 2021 [acceso 26/05/2023];36(6):[aprox. 6 pant.]. DOI: <https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/07487304211051841>

10. Salvatore PPDE, Reses HE, Vuong J, Pawloski TDL, Bhattacharyya S. Epidemiological correlates of polymerase chain reaction cycle threshold values in the detection of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). Clin Infect Dis. 2021 Jul [acceso 20/04/2022];72(11):[aprox. 6 pant.]. Disponible en: <https://academicoupcom/cid/article/72/11/e761/5912493>.

11. Singanayagam APM, Charlett A, Lopez Bernal J, Saliba V, Ellis J, Ladhani S, *et al*. Duration of infectiousness and correlation with RT-PCR cycle threshold values in cases of COVID-19. Euro Surveill. 2020;25(32):[aprox. 1 pant.]. DOI: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.32.2001483>

12. La Scola BLA, 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 [acceso 20/04/2022];39(6):[aprox. 2 pant.]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7185831/>

13. Yin N, Dellicour S, Daubie V, Franco N, Wautier M, Faes C, *et al.* Leveraging of SARS-CoV-2 PCR cycle thresholds values to forecast COVID-19 trends. *Front Med (Lausanne)*. 2021 [acceso 19/06/2021];8[aprox. 1 pant.]. Disponible en: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=Yin+N&cauthor_id=34790677
14. El Zein S, El-Hor N, Chehab O, Alkassis S, Mishra T, Trivedi V, *et al.* Declining trend in the initial SARS-CoV-2 viral load during the pandemic: preliminary observations from detroit, Michigan. *MedRxiv*. 2020 [acceso 19/06/2021]. Disponible en: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.11.16.20231597v1.full-text>
15. Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu D, *et al.* Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill*. 2020;25(3):2000045. DOI: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045>
16. Laboratory biosafety manual: third edition. Geneva: World Health Organization; 2004 [acceso 11/06/2020]. Disponible en: <https://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/Biosafety7.pdf?ua=1>
17. Hay JA, Kennedy-Shaffer L, Kanjilal S, Lennon NJ, Gabriel SB, Lipsitch M, *et al.* Estimating epidemiologic dynamics from cross-sectional viral load distributions. *Science*. 2021;373(6552):[aprox. 1 pant.]. DOI: <https://www.science.org/doi/pdf/10.1126/science.abh0635>
18. Lippi G, Plebani M. The many clinical advantages of reporting the cycle threshold (Ct) value. *Ann Translat Med*. 2022;10(7):[aprox.6 pant.]. DOI: <https://dx.doi.org/10.21037/atm-22-1104>
19. Parra-Ortega ICFE, Galaviz-Hernández S, Romero-Navarro B, De la Rosa-Zamboni D, Moreno-Miranda R. 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):[aprox. 4 pant.]. DOI: <https://dx.doi.org/10.35366/105026>.
20. Noda Alonso SH. Variantes de SARS-CoV-2 en Cuba: motivo más para fortalecer las medidas de aislamiento. La Habana: Facultad de Comunicación de la Universidad de La Habana; 2020. Disponible en: <https://salud.msp.gob.cu/>
21. Jaafar R, Aherfi S, Wurtz N, Grimaldier C, Van Hoang T, Colson P, *et al.* Correlación entre 3790 muestras positivas de reacción en cadena de la polimerasa

- cuantitativa y cultivos celulares positivos, incluidos 1941 aislamientos de coronavirus 2 del síndrome respiratorio agudo severo. Clin Infect Dis. 2021 [acceso 10/03/2022];72:[aprox. 1 pant.]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32986798/>
22. Tom MR, Mina MJ. To interpret the SARS-CoV-2 test, consider the cycle threshold value. Clin Infect Dis. 2020 [acceso 19/06/2021];71(16):[aprox. 2 pant.]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32435816>
23. Kissler SM, Fauver JR, Mack C, Tai CG, Breban MI, Watkins AE, *et al.* Viral dynamics of SARS-CoV-2 variants in vaccinated and unvaccinated persons. New Eng J Med. 2021;385(26):[aprox. 2 pant.]. DOI: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/Nejmc2102507>
24. Zou L, Ruan F, Huang M, Liang L, Huang H, Hong Z. SARS-CoV-2 viral load in upper respiratory specimens of infected patients. N Engl J Med. 2020;382:[aprox. 2 pant.] DOI: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMc2001737>
25. Romero Gómez MP, Gómez Sebastian S, Cendejas Bueno E, Montero Vega MD, Mingorance J, García-Rodríguez J. Ct value is not enough to discriminate patients harbouring infective virus. J Infect. 2021 [acceso 10/03/2022];82(3):[aprox. 2 pant.] Disponible en: [https://www.journalofinfection.com/article/S0163-4453\(20\)30720-9/abstract](https://www.journalofinfection.com/article/S0163-4453(20)30720-9/abstract)
26. Asociación Colombiana de Infectología” (ACIN)-IETS GA-. Consenso colombiano de atención, diagnóstico y manejo de la infección por SARS-COV-2/COVID-19 en establecimientos de atención de la salud: recomendaciones basadas en consenso de expertos e informadas en la evidencia. Infection. 2020;24(3):[aprox. 75 pant.]. DOI: <http://dxdoiorg/1022354/inv24i3851>.
27. Memish ZA, Al-Tawfiq JA, Makhdoom HQ, Assiri A, Alhakeem RF, Albarrak A, *et al.* Respiratory tract samples, viral load, and genome fraction yield in patients with middle east respiratory syndrome. J Infect Dis. 2014 [acceso 25/05/2023];210:[aprox. 4 pant.]. DOI: <https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=08a6aea3bf132ad58e0759489ee6969cfb8e8b2d>

28. Mowrer CT, Creager H, Cawcutt K, Birge, Lyden E, Van Schooneveld TC, *et al.* Evaluation of cycle threshold values at deisolation. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2021;43(6):[aprox. 2 pant.]. DOI: <https://doi.org/10.1017/ice2021132>.
29. Montiel D, Torres E, Samudio M, López M, Duarte L, Vysokolán PMS, *et al.* Asociación del umbral de ciclos (Ct) en prueba RT-PCR para SARS-CoV-2 y severidad de la COVID-19 en pacientes de un hospital de referencia en Paraguay. *Memoria. Inst. Investigando. Ciencia Salud.* 2022;20(1):53-63. DOI: <https://doi.org/10.18004/mem.iics/1812-9528/2022.020.01.53>
30. Gao Z, Xu Y, Sun C, Wang X, Guo Y, Qiu S, *et al.* A systematic review of asymptomatic infections with COVID-19, *Journal of Microbiology, Immunology and Infection.* 2021;54(1):12-6. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2020.05.001>
30. Heudobler M, Baurecht H, Schmied H, Heudobler D, Jochem C, Sedlmeier AM, *et al.* Association of epidemiological and clinical features with PCR cycle threshold values of SARS-CoV-2 infection: a cross-sectional study. *Pathogens and Global Health.* 2022:1-9. DOI: <https://doi.org/10.1080/20477724.2022.2158003>
31. CEA-NANO+RNA 3.0. Sistema de Extracción Magnética de ARN a partir de muestras biológicas. Instrucciones para el uso. Centro de estudios Avanzados de Cuba; 2021
32. QIAamp Viral RNA Kits. Disponible en: <https://www.qiagen.com/us/products/diagnostics-and-clinical-research/sample-processing/qiaamp-viral-rna-kits/>
33. Barrera Saldaña H, Rivera Santiago C, Rodríguez Palacios R. SARS-CoV-2: Challenges in Reverting Diagnostic Laboratories to Combat the Pandemic. *Microbiol Spectrum.* 2022 [acceso 29/11/2023];10(6):e01477-22. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9769709>
34. Walker AS, Pritchard E, House T, Robotham JV, Birrell PJ, Bell I, *et al.* Ct threshold values, a proxy for viral load in community SARS-CoV-2 cases, demonstrate wide variation across populations and over time. *Elife.* 2021 [acceso 19(06/2021)];10:[aprox. 1 p.]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8282332/>

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses.

Contribución de los autores

Conceptualización: María de Lourdes Sánchez Álvarez.

Curación de datos: Geni Hernández González, María de Lourdes Sánchez, Álvarez, Hilda D. Roque de Escobar Martín, Rafael Abreu Duarte.

Análisis formal: María de Lourdes Sánchez Álvarez, Hilda D. Roque de Escobar Martín.

Metodología: María de Lourdes Sánchez Álvarez, Hilda D. Roque de Escobar Martín, Rafael Abreu Duarte.

Recursos: María de Lourdes Sánchez Álvarez, Hilda D. Roque de Escobar Martín.

Supervisión: María de Lourdes Sánchez Álvarez, Hilda D. Roque de Escobar Martín.

Redacción – borrador original: María de Lourdes Sánchez Álvarez, Hilda D. Roque de Escobar Martín.

Redacción – revisión y edición: María de Lourdes Sánchez Álvarez, Hilda D. Roque de Escobar Martín, Rafael Abreu Duarte, Alina Choy Marrero, Juan José Pulido López.