

Trendy prahových hodnot cyklu SARS-CoV-2 v České republice od dubna 2020 do dubna 2022

 [nature.com/articles/s41598-023-32953-2](https://www.nature.com/articles/s41598-023-32953-2)

Abstraktní

Neschopnost předvídat vývoj epidemie COVID-19 omezila schopnost účinně reagovat na krizi. Prahová hodnota cyklu (C_t) ze standardního klinického testu SARS-CoV-2 kvantitativní reverzní transkripce-PCR (RT-qPCR) je nepřímo úměrná množství SARS-CoV-2 RNA ve vzorku. Zajímalo nás, zda hodnoty C_t populace mohou předpovídat budoucí nárůsty případů COVID-19 a také podskupiny, které budou pravděpodobněji zasaženy. Tyto informace by byly velmi užitečné v rané fázi epidemie COVID-19. Provedli jsme proto retrospektivní analýzu demografických dat a hodnot C_t z 2 076 887 testů RT-qPCR nasofaryngeálních výtěrů, které byly provedeny v jediné diagnostické laboratoři v České republice od dubna 2020 do dubna 2022 a od roku 2021, 671 testů, které byly provedeny v rámci povinného školního dozorového testovacího programu od března 2021 do března 2022. Zjistili jsme, že hodnoty C_t by mohly být užitečnými prediktivními nástroji při zvládnutí virových epidemií v reálném čase. Za prvé, včasné měření hodnot C_t by ukázalo nízkou virovou zátěž u dětí, ekvivalentní virovou zátěž u mužů a žen a vyšší virovou zátěž u starších jedinců. Za druhé, rostoucí nebo klesající střední hodnoty C_t a rozdíly v distribuci C_t naznačovaly změny v přenosu v populaci. Za třetí, sledování hodnot C_t a míry positivity by poskytlo včasné důkazy o tom, zda jsou preventivní opatření účinná. Orgány zdravotnického systému by proto měly zvážit sběr týdenních středních hodnot C_t pozitivně testovaných vzorků z velkých diagnostických laboratoří pro regionální epidemický dohled.

Úvod

Infekce SARS-CoV-2 a pandemie COVID-19 způsobily celosvětovou krizi ovlivňující všechny aspekty života každého jednotlivce v celosvětové populaci. Jednotlivé země zavedly širokou škálu zmírňujících politik ke kontrole šíření infekce a zabránění přetížení národních zdravotnických systémů. Neschopnost předvídat trendy ve výskytu infekce SARS-CoV-2 a vyhodnotit účinky zmírňujících politik omezila schopnost reagovat na krizi.

Preferovanou testovací metodou pro infekci SARS-CoV-2 je test kvantitativní reverzní transkripce-PCR (RT-qPCR) v reálném čase. Pozitivita testu je určena hodnotami prahu cyklu (Ct). Hodnota Ct je definována jako počet cyklů PCR potřebných k tomu, aby fluorescenční signál generovaný amplifikací PCR překročil hladinu fluorescence pozadí, a hodnota Ct je nepřímo úměrná množství cílové nukleové kyseliny ve vzorku. Předchozí studie prokázaly, že hodnota Ct byla přesným prediktorem virové zátěže RNA pomocí kultivovatelného viru SARS-CoV-2 z nasofaryngeálních výtěrů ¹ a hodnoty Ct nepřímo korelovaly s rizikem přenosu ². Nízké hodnoty Ct ukazují na vysokou virovou zátěž, akutní fázi infekce a potenciálně vysokou infekčnost. Vysoké hodnoty Ct se typicky vyskytují ve velmi rané fázi infekce a během rekonvalescence. Hodnoty Ct tak mohou poskytnout informaci o stadiu infekce jedince (časné, aktivní, rekonvalescentní) a mohou indikovat závažnost onemocnění a/nebo infekčnost ^{3, 4, 5}. Zatímco hodnoty Ct nejsou užitečné při individuálním hodnocení závažnosti onemocnění ⁶, hodnoty Ct mohou být užitečné při hodnocení infekčnosti populace a mohly by být užitečným epidemiologickým ukazatelem včasného varování pro posuny v přenosu ^{7, 8, 9, 10}. Značná kontroverze také existuje ohledně náchylnosti k infekci SARS-CoV-2 u skupin různých věkových a vzdělávacích stupňů ¹¹ a ohledně vlivu uzavření škol na šíření nemoci ¹².

V této studii jsme retrospektivně analyzovali data z 2 076 887 testů RT-qPCR, které byly provedeny mezi dubnem 2020 a dubnem 2022 pro diagnostické, epidemiologické a preventivní indikace ve výtěrech

z nosohltanu od 1 280 248 jedinců z geograficky odlišných oblastí, které využívaly 98 % národních poštovních směrovacích čísel. Česká republika. Vzorky byly testovány v jednom diagnostickém centru SPADIA LAB v Ostravě. Analyzovali jsme také výsledky 221 671 testů RT-qPCR, které byly provedeny na vzorcích slin od 66 434 jedinců v rámci povinného dozorového testovacího programu na školách od března 2021 do března 2022. Naším cílem bylo zjistit, jak hodnoty Ct korelují s epidemiologickými trendy v komunitě a případně s aplikovanými politikami zmírňování,

Metody

Studie analyzovala hodnoty Ct získané z klinicky validovaných (CE-IVD certifikovaných) RT-qPCR testů na infekci SARS-CoV-2 v akreditované SPADIA LAB (<https://www.spadia.cz/>), kteřá slouží jednotlivcům, nemocnicím, školy, firmy, obce a další instituce po celé ČR. Metody jsou podrobně popsány v Doplňkových metodách .

Stručně řečeno, přítomnost SARS-CoV-2 byla stanovena z nazofaryngeálních výtěrů (viRNATrap, *GeneSpector*, *Česká republika*) v běžné populaci. Pro testování školního dozoru byla použita RNA ze slin (Salivette, *Sarstedt*, *Německo*). Testování bylo provedeno metodou kvantitativní polymerázové řetězové reakce s reverzní transkriptázou (RT-qPCR) (gb SARS-CoV-2 Combi, *Generi Biotech*, *Česká republika*) na systému CFX96 (*Bio-Rad*, *Hercules*, *CA, USA*) s předchozí automatizovanou izolace nukleových kyselin na magnetických částicích (*GeneSpector*, *Česká republika*) pomocí KingFisher Flex Purification System (*Thermo Scientific*, *Waltham, MA, USA*). Data získaná při každém testu zahrnovala datum, kdy byl vzorek získán, osobní ID, věk a pohlaví a PSČ trvalého bydliště pacienta. Test byl považován za pozitivní, pokud fluorescenční signál překročil práh před 38 cykly PCR amplifikace. Informace o přidružených stavech a příznacích COVID-19 nebyly k dispozici. Čištění dat, souhrnné statistiky a vizualizace datové sady byly

prováděny v R-studiu (R verze 4.0.5). Údaje z kontrolních školních testů provedených ve vzorcích slin jsou uvedeny samostatně, pouze na obr. 4. Obr.

Veškerý výzkum byl prováděn v souladu s Helsinskou deklarací a všemi příslušnými institucionálními směrnicemi a etickými předpisy pro práci s lidskými účastníky.

Etická komise Medirex as (schválení č. 20187/2022) a Etická komise Institutu klinické a experimentální medicíny a Fakultní Thomayerovy nemocnice (schválení č. 29162/21; G-21-69) studii schválily. a vzdali se nutnosti získat informovaný souhlas, protože povaha studie byla retrospektivní.

Data byla kategorizována do devíti demografických skupin podle věku a úrovně vzdělání: novorozenci a batolata (0–2 roky); předškolní děti (3–5 let); děti ZŠ I. (6–8 let); děti základní školy II. (9–13 let); děti základní školy III. (14–15 let); mládež I/střední školy (16–19 let); mládež II/VŠ (20–26 let); dospělí (27–65 let) a senioři (66 let a více).

Rozdíly hodnot Ct mezi kategoriemi byly porovnány pomocí Kruskal-Wallisovy jednosměrné analýzy rozptylu s Dunnovým post hoc testem. Poměr šancí (OR) a 95% interval spolehlivosti (CI) pro prevalenci infekce SARS-CoV-2 mezi kategoriemi byly stanoveny a porovnávány mezi kategoriemi týdně pomocí Waldova testu a Fisherova exaktního testu. Rozdíl v souhrnné prevalenci SARS-CoV-2 pozitivních testů mezi kategoriemi byl porovnán pomocí mediánově nezkresleného odhadu (metoda mid-p) a Fisherova exaktního testu.

Výsledek

Hodnoty Ct byly získány z ~ 10 % všech testů SARS-CoV-2 a regionů zastoupených 98 % všech poštovních směrovacích čísel v České republice

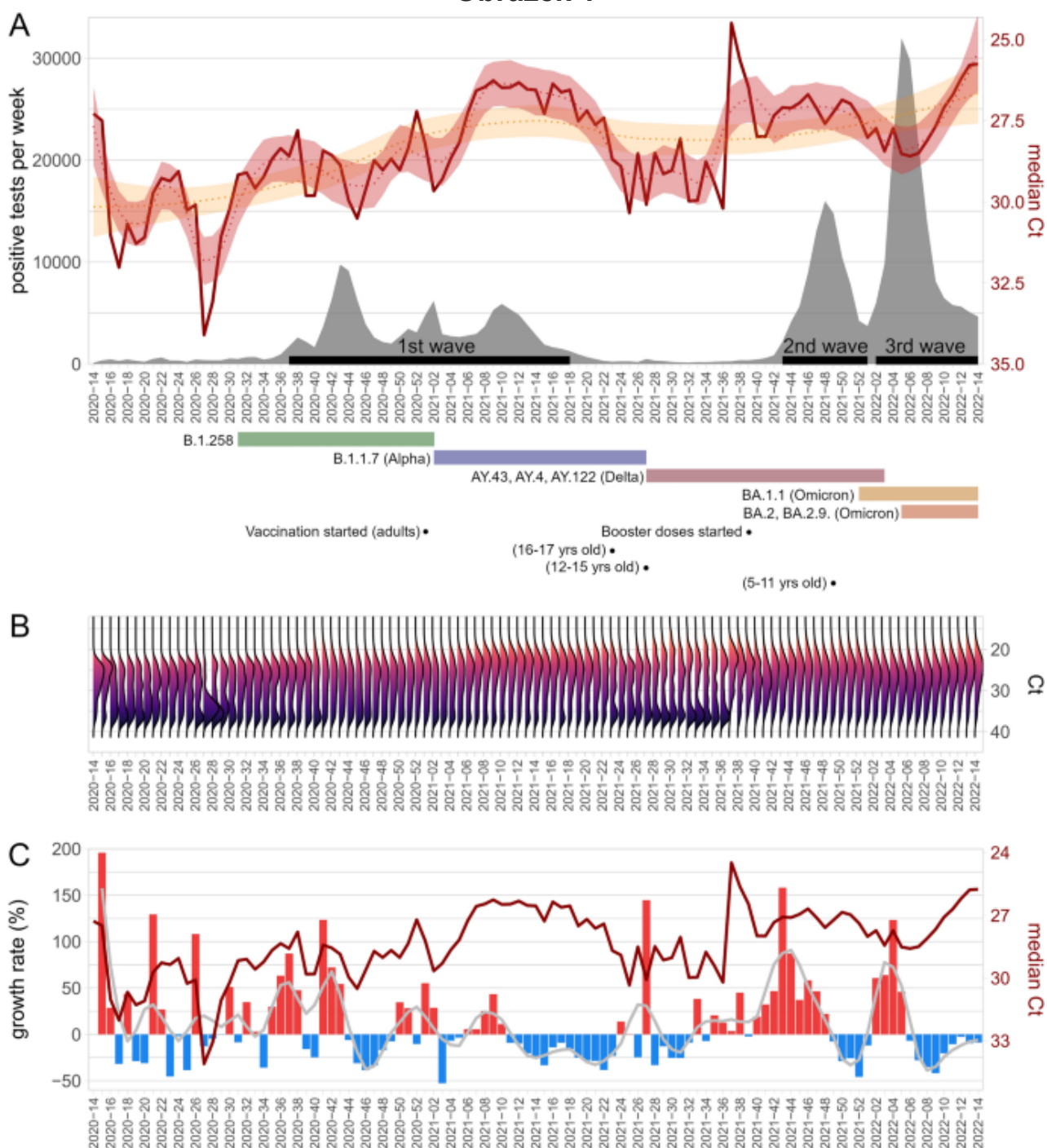
SPADIA LAB provedla přibližně 10 % všech testů SARS-CoV-2 v České republice od dubna 2020 do dubna 2022 na vzorcích přijatých z 2616 z 2676 (98 %) všech českých poštovních směrovacích čísel. Za toto období laboratoř provedla 2 298 558 testů. Populační zdroj pro studii, demografická struktura studované populace s počtem provedených testů v jednotlivých věkových a vzdělanostních skupinách jsou uvedeny na doplňkovém obr. 1A a 1B, resp. Od dubna 2020 do dubna 2022 laboratoř provedla 2 076 887 testů pro diagnostické, epidemiologické a preventivní účely ve výtěrech z nosohltanu od 1 280 248 jedinců. Z toho bylo 406 786 (20 %) testů a 389 656 (30 %) jedinců pozitivních na infekci SARS-CoV-2. Počet provedených testů v průběhu epidemie kolísal a vrcholil během druhé a třetí vlny, kdy bylo více než 80 000 testů týdně (doplňkový obr. S2 A). 66,9 % jedinců bylo testováno jednou, přičemž 32,7 % podstoupilo vícenásobné testování (2–8krát). 5997 (0,5 %) jedinců bylo testováno velmi často (9–87krát) (doplňkový obr. S2B). Počet pozitivních diagnostických testů také v průběhu epidemie kolísal a vrcholil během druhé a třetí vlny, kdy přesáhl 15 000 a 30 000 pozitivních testů týdně (doplňkový obr. S2 C). 95,9 % jedinců, kteří byli testováni pozitivně, mělo pouze jeden pozitivní výsledek testu, 3,8 % mělo dva pozitivní výsledky a 0,3 % mělo mezi 3 a 7 pozitivními výsledky (doplňkový obr. S2 D). Soubor dat nebyl oříznut, aby se odstranilo více pozitivních testů na jednotlivce. Míra positivity také kolísala v průběhu epidemie a dosáhla vrcholu na 45 % (doplňkový obr. S2 E).

Týdenní střední hodnoty Ct odhadují trajektorii epidemie a střední hodnoty Ct se v populaci neustále zvyšovaly

Medián týdenních hodnot Ct (obr. 1 A, B) v průběhu epidemie kolísal mezi 24,5 a 34,1. Nižší střední hodnoty Ct (odpovídající zvýšení populační zátěže SARS-CoV-2) byly spojeny s pozitivní rychlostí růstu pozitivních vzorků a strmým nárůstem u pozitivních případů přibližně 3 týdny poté, zatímco vyšší střední hodnoty Ct (odpovídající poklesu populace Zátěž SARS-CoV-2) indikovala začátek vyřešení nedávné epidemie (obr. 1 C, doplňkový obr. S3).

Tento trend se koncem roku 2021 vytratil, protože nárůstu pozitivně testovaných vzorků v lednu 2022 naopak předcházela nárůst mediánových hodnot Ct. Jednotlivé hodnoty Ct pozitivních testů se pohybovaly od 12 do 38 cyklů a vykazovaly bimodální distribuci (obr. 1 B). Bimodalita byla evidentní v průběhu epidemie, ale rozložení hodnot Ct se v průběhu času měnilo. Podíl vzorků s nízkým Ct se zvyšoval s podílem pozitivních testů a klesal, když infekce odezněla. Je zajímavé, že náhlé zvýšení podílu vzorků s nízkými hodnotami Ct bylo spojeno se zvýšením výskytu infekce SARS-CoV-2 několik týdnů poté, jak lze vidět na posunu mezi týdny 2021-36 a 2021-38 a začátek 2. vlny o čtyři týdny později.

Obrázek 1



(**A**) Časový průběh středních hodnot Ct za týden (tmavě červená čára) a celkový počet pozitivních testů za týden (šedá oblast). Sprašové křivky přizpůsobené mediánům Ct jsou znázorněny jako tečkovaná červená čára ($\alpha = 0,15$) a žlutá čára ($\alpha = 0,7$). Stínované oblasti kolem křivek jsou intervaly spolehlivosti 0,95. Černé segmenty na ose x označují vlny velkých epidemií zvažované v následných analýzách. Barevné segmenty pod osou x označují hlavní varianty SARS-CoV-2 přítomné v populaci na základě veřejně dostupných údajů. Černé tečky označují začátek očkování. (**B**) Distribuce Ct pozitivních testů znázorněné jako grafy polovičních houslí. (**C**) Časový průběh středních hodnot Ct za týden (tmavě červená čára) a rychlost růstu pozitivních

vzorků. Rychlost růstu je vyjádřena modře pro záporné hodnoty (pokles) a červenou pro kladné hodnoty (růst). Sprašová křivka přizpůsobená rychlosti růstu je znázorněna jako plná šedá čára ($\alpha = 0,1$).

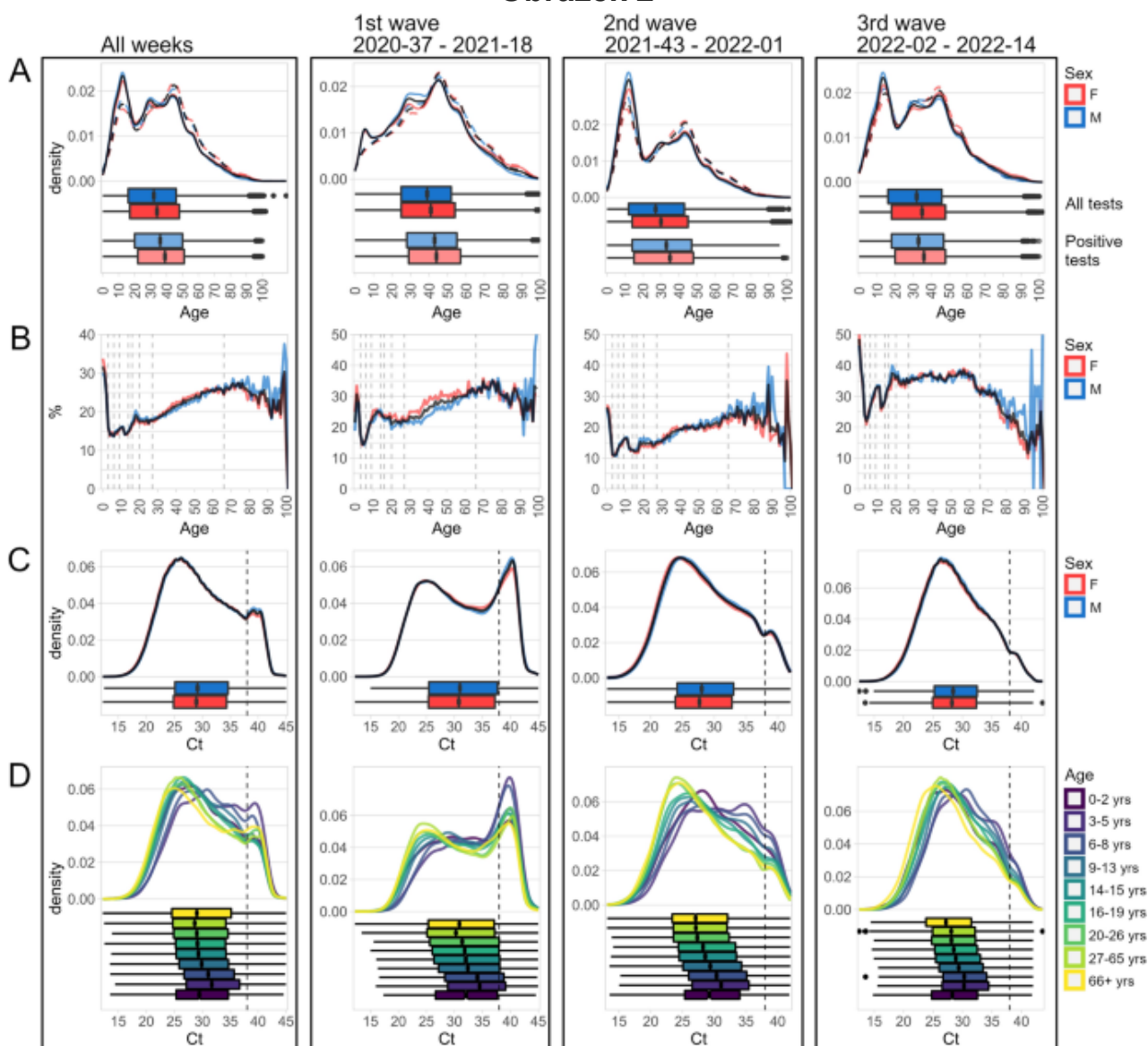
[Obrázek v plné velikosti](#) >

Celkově se střední hodnoty Ct v průběhu epidemie stabilně snižovaly z přibližně 30 na 26,5. Rozdíl ve středních týdenních hodnotách Ct odpovídá přibližně desetinásobnému zvýšení zátěže virovou RNA v analyzovaných materiálech od počátku epidemie do současnosti; viz sprašové křivky na obr. 1A.

Testování SARS-CoV-2 je nepřiměřeně zaměřeno na děti

Celkové a vlnově specifické věkové a pohlaví všech testů, pozitivní testy a odpovídající míry positivity testů jsou znázorněny na obr. 2 A a B. V porovnání s věkovou strukturou populace (<https://www.czso.cz/staticke/animgraf/cz/>), rozložení všech provedených testů odhalilo neúměrně zvýšené testování s nižším počtem pozitivních testů a nižší pozitivitou testů u dětí ve srovnání s jinými věkovými skupinami. Tato disproporce nebyla patrná v první vlně epidemie, kdy distribuce všech testů, pozitivních testů a odpovídající pozitivita testů korelovala se strukturou populace. Projevilo se to během druhé a třetí vlny epidemie a bylo způsobeno dozorovým testováním školních dětí. Zatímco míra testování byla u dětí neúměrně vysoká, míra positivity testů byla u dětí během prvních dvou vln epidemií trvale nejnižší. Trend positivity se změnil během třetí vlny v roce 2022 s variantou Omicron, kdy byla nejnižší pozitivita testů přítomna u seniorské populace.

Obrázek 2



(A) Věkové rozložení všech testovaných jedinců; všechny testy (plné čáry a tmavší rámečky) a pozitivní testy (přerušované čáry a světlejší rámečky). (B) Pozitivita testů (v %) ve vztahu k věku testovaných jedinců. Svislé tečkované čáry ukazují limity pro věkové kategorie. (C) Rozdělení Ct všech testů. Tečkovaná svislá čára ukazuje práh použitý pro pozitivitu testu. (D) Rozdělení Ct všech testů. Data jsou rozdělena podle věku jedinců. Údaje v (A – C) představují všechny testy (černé), testy provedené u žen (červené) a testy provedené u mužů (modré). Údaje v (A , C , D) je znázorněn jako graf hustoty doplněný o boxplots.

[Obrázek v plné velikosti >](#)

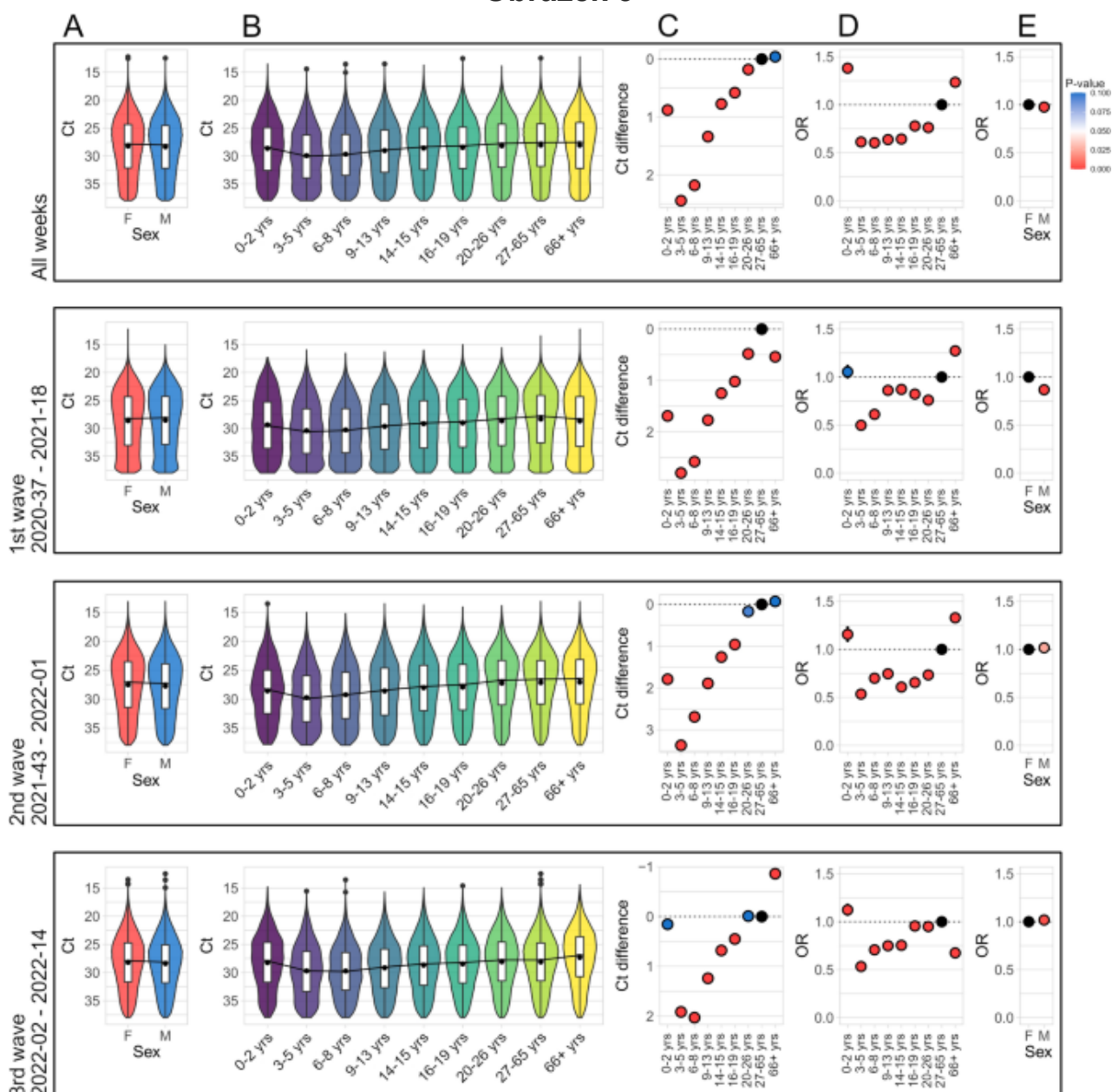
Celkové a vlnově specifické rozložení hodnot Ct jsou znázorněny na obr . 2C . Během první vlny epidemií prokázaly hodnoty Ct bimodální distribuci s vrcholy po 25 a 40 cyklech a lokálním minimem mezi nimi po 35 cyklech. Vrchol kolem vyšších hodnot Ct,

který byl patrný během první vlny epidemií, postupně mizel. Rozdělení hodnot Ct podle věku je znázorněno na obr . 2D . Prokazuje věkově závislý pokles hodnot Ct (např. vyšší množství SARS-CoV-2 RNA zátěže) z dětí na dospělé. Tento vzorec zůstal konzistentní po celou dobu epidemie.

Děti a mládež měli trvale nižší virovou zátěž SARS-CoV-2 než dospělí

Celkové a vlnově specifické rozdíly ve středních nebo středních hodnotách Ct pozitivních testů mezi ženami a muži (obr. 3 A) byly minimální (průměrná Ct = 28,22 vs. 28,35 a medián Ct = 27,87 vs. 28,03, v tomto pořadí; P-hodnota = 3×10^{-16} podle Mann–Whitney U testu).

Obrázek 3



Rozdělení Ct pozitivních testů kategorizovaných podle pohlaví (**A**) nebo věku jedince (**B**). Data jsou zobrazena jako houslové grafy, doplněné o Ct střední hodnoty (černé body) a vrubové krabicové grafy. Mediány jsou spojeny černou čarou. (**C**) Rozdíly středních hodnot Ct (ve srovnání se skupinou dospělých 27–65 let). Barva bodů odpovídá P-hodnotám z Dunnova testu. (**D**) Poměry pravděpodobnosti míry pozitivity testů na věkovou skupinu ve srovnání se skupinou dospělých (27–65 let). (**E**) Poměry pravděpodobnosti míry pozitivity testu podle pohlaví. Intervaly spolehlivosti byly vypočítány pomocí mediánově nezkresleného odhadu (metoda mid-p), barva bodů odpovídá P-hodnotám z Fisherova exaktního testu.

[Obrázek v plné velikosti](#)

Celková a vlnově specifická distribuce hodnot Ct byla v jednotlivých věkových skupinách významně odlišná (P-hodnota $< 2 \times 10^{-16}$; jednosměrná Kruskal–Wallis ANOVA s Dunnovým post hoc testem). Obrázek 3 B, doplňkový obr. S4 a doplňková tabulka 1 ukazují, že hodnoty Ct byly nejvyšší (např. zátěž RNA SARS-CoV-2 byla nejnižší) u dětí a že Ct se snížila (např. zátěž RNA SARS-CoV-2 zvýšená) s věkem (obr. 3 C). Rozdíl v hodnotách Ct odpovídá 4–5násobnému snížení zátěže virovou RNA v analyzovaných materiálech mezi dětmi a dospělými. Doplňkový obr. S5 ukazuje, že týdenní střední hodnoty Ct v jednotlivých věkových skupinách v průběhu epidemie kolísaly, ale rozdíly v hodnotách Ct ve srovnání se skupinou dospělých (27–65 let) byly relativně konzistentní (doplňkový obr. S6).

Děti měly trvale nižší prevalenci pozitivních testů na SARS-CoV-2

Zjistili jsme, že děti a mládež měli trvale přibližně dvakrát nižší souhrnnou prevalenci pozitivních testů než dospělí a senioři (obr. 3 D; příloha tabulka 2). Podíl míry positivity byl také nižší u mužů s poměrem šancí 0,976 (95% CI od 0,969 do 0,982) (obr. 3 E).

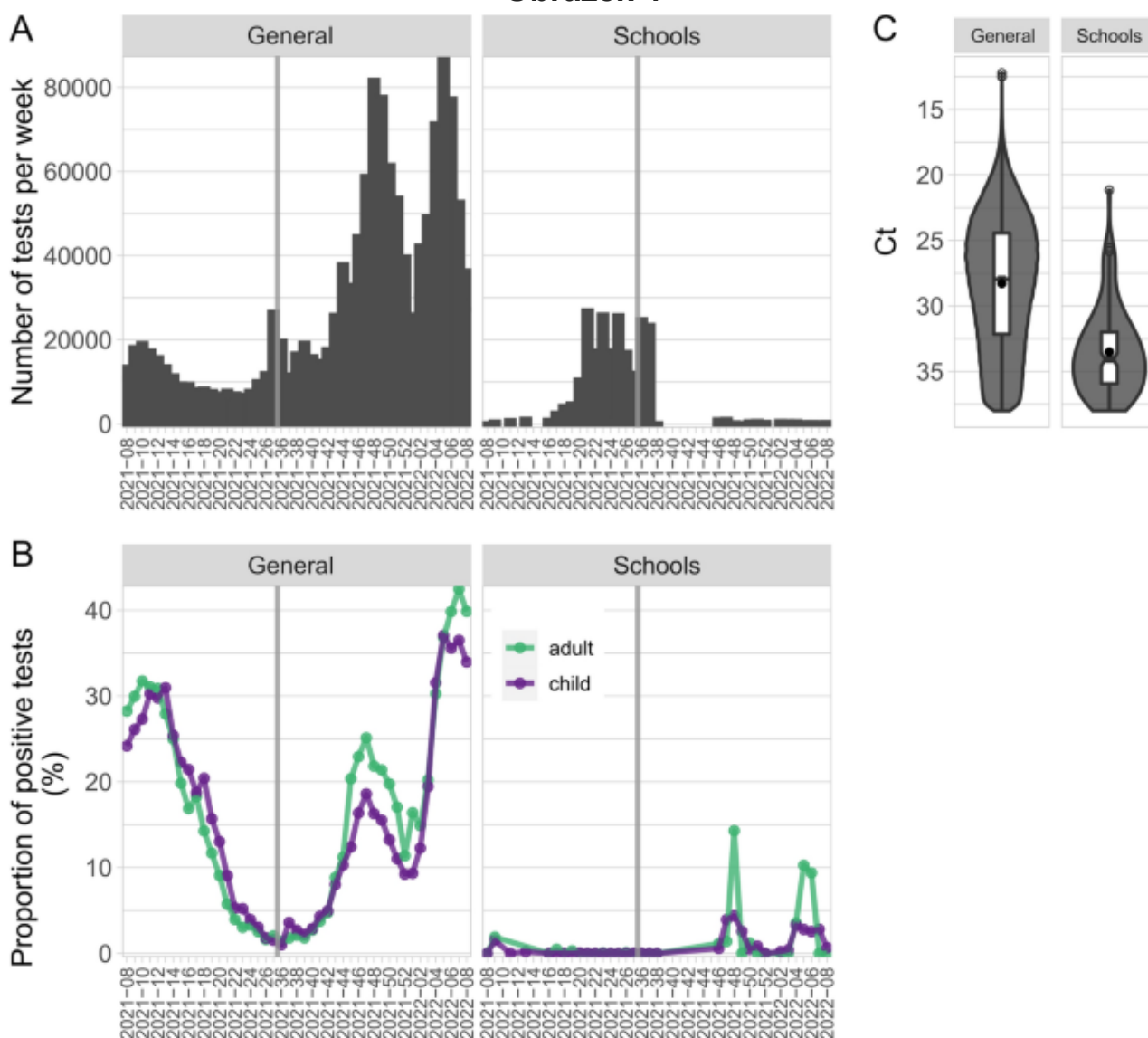
Doplňující obr. S7 ukazuje, že poměry pravděpodobnosti míry positivity diagnostických testů za týden v průběhu epidemie kolísaly, ale rozdíly ve srovnání se skupinou dospělých (27–65 let) byly relativně konzistentní. Nejnižší pravděpodobnosti míry positivity (cca 2x nižší) byly u dětí předškolního věku (3–5 let) a I. stupně základní školy (6–8 let). Senioři (66 let a více) měli pravděpodobnostní poměry positivity diagnostických testů trvale nejvyšší až do začátku roku 2022. Doplňkový obr. S8 ukazuje, že po uzavření škol následovaly snížené hodnoty Ct a zvýšené týdenní poměry pravděpodobnosti positivity diagnostických testů v populacích I. (6–8 let) dětí ZŠ.

Míra infekce SARS-CoV-2 u dětí základních škol byla nízká i při vysoké populační incidenci

K odhadu incidence a prevalence infekce SARS-CoV-2 na základních školách provedla laboratoř mezi lety 2021-08 a 2022-08 v rámci povinného dozorového testovacího programu 221 671 testů slin u 66 434 jedinců (63 283 dětí a 3 151 dospělých). školy.

Obrázek 4 A ukazuje časové rozložení obecného testování v populaci a školního testování. Ve školách bylo 156 (0,0007 %) testů a 154 (0,002 %) jedinců pozitivních na SARS-CoV-2, přičemž 27 ze 154 (18 %) pozitivně testovaných jedinců byli dospělí; (OR = 4,3 (95% CI od 2,8 do 6,5; $P < 0,0001$). Ve stejném období laboratoř provedla 1 307 283 testů v běžné populaci, z toho 270 917 (21 %) pozitivních. Obrázek 4B ukazuje, že míra positivity testů v obecné populaci v celém časovém okně zpočátku klesla z 30 na 2 %, když první vlna epidemie ubývala, a poté se na začátku roku 2022 zvýšila s druhou a třetí vlnou až na 35 %. Během tohoto časového intervalu se podíl pozitivních testů u školních dětí pohyboval od 0 do 4 % (obr. 4 B). U pozitivních školních vzorků se hodnoty Ct pohybovaly od 21,15 do 38 cyklů (průměr Ct = 33,51, medián Ct = 34,08); distribuce hodnot Ct byla odlišná od diagnostických testů částečně proto, že kontrolní testy byly prováděny ve slinách (obr. 4 C).

Obrázek 4



Srovnání všeobecného a školního testování. (**A**) Celkový počet všeobecných a školních testů, které byly provedeny mezi týdny 2021-08 a 2022-08. (**B**) Podíl kladných všeobecných a školních testů (%). Jako hranice mezi skupinou dětí a dospělých byl použit věk 19 let. (**C**) Distribuce Ct pozitivních obecných a školních testů znázorněné jako houslové grafy, doplněné středními hodnotami Ct (černé body) a vrubovými krabicovými grafy.

[Obrázek v plné velikosti >](#)

Diskuse

Během této epidemie nebylo možné předpovídat nárůsty nebo poklesy případů COVID-19 ¹³, což významně ovlivňuje schopnost úředníků veřejného zdraví reagovat na tuto krizi. Například v některých oblastech bylo na počátku epidemie prováděno zrušení elektivních operací v očekávání nárůstu případů, které se nevyskytly.

Podobně některá centra nezrušila volitelné ordinace a poté byla zavalena neočekávaným nárůstem případů COVID-19. V této analýze jsme se snažili zjistit, jak průměrné týdenní hodnoty Ct z testů RT-qPCR korelují s incidencí infekce SARS-CoV-2 v běžné populaci a jednotlivých věkových skupinách České republiky, neboť roli v přenosu onemocnění hraje věk velký význam při navrhování intervencí ¹⁴ ,¹⁵.

Hodnoty Ct jsou ovlivněny mnoha preanalytickými a analytickými proměnnými, které ztěžují mezilaboratorní srovnání a brání léčbě pacientů na základě výsledků ⁶. Zde jsme konzistentně porovnávali hodnoty Ct se vzorky získanými z nasofaryngeálních výtěrů, které byly odebrány a transportovány v jednom typu konzervačního média, pomocí jednoho typu testu RT-qPCR a provedeny v jediné laboratoři, která poskytla v průměru 10 % všechny testy na > 98 % PSČ ČR. To zajistilo nejvyšší možnou standardizaci odhadu Ct. Naše studie má několik omezení, jako jsou nedostupné informace o přítomnosti a spektru příznaků COVID-19 a případných komorbiditách. Také jsme nebyli schopni rozdělit data podle testovacích účelů a variant SARS-CoV-2. Přesto hodnoty Ct získané z více než dvou milionů vzorků během dvou let z homogenní populace zažívající vlny Alfa,

Nejprve jsme souhrnně analyzovali hodnoty Ct s cílem zjistit, jak hodnoty Ct korelovaly s výskytem a průběhem epidemie. Podíl pozitivně testovaných jedinců vykazoval genderově nezávislý nárůst korelující s věkem. Hodnoty Ct prokázaly bimodální distribuci, která je typická pro jiné virové infekce ¹⁶ , stejně jako pro SARS-CoV-2 ¹⁷ , ¹⁸ , kde se předpokládá, že vzorky s nízkými hodnotami Ct indikují podíl jedinců s vysokou virovou zátěží v akutní fázi infekce a potenciálně vysoké infekčnosti, zatímco vyšší hodnoty Ct jsou typické pro časnou fázi infekce nebo rekonvalescenci ³ , ¹⁹ , ²⁰. Souhrnná analýza a rozložení hodnot Ct odhalilo, že průměrné týdenní hodnoty Ct v průběhu epidemie kolísaly a že postupný pokles průměrných týdenních hodnot Ct (obr. 1 A a C) a zvýšená dominance vrcholu kolem nižších hodnot Ct (obr. 1 B) naznačovaly

budoucí nárůst výskytu pozitivně testovaných vzorků a jedinců v 1. a 2. vlně. Tyto výsledky nebyly ovlivněny hraniční hodnotou pro pozitivitu testu (doplňkový obrázek S9). To podporuje nedávné virologické průzkumy prokazující, že hodnoty Ct SARS-CoV-2 v komunitě/skupině jsou užitečným epidemiologickým ukazatelem včasného varování pro posuny v přenosu ^{7, 8, 9}. Hay a kol.⁷ zjistili, že distribuce Ct na úrovni populace silně koreluje s odhady efektivního reprodukčního počtu nebo rychlosti růstu v prostředí reálného světa. Měli však obavy, že změny v dostupnosti testů, testovacích metodách, strategiích a měnících se virových vlastnostech mohou také vést k posunům v distribucích hodnot Ct. V našem nastavení byly testovací kapacity dostatečné a metody byly vysoce standardizované. Na druhou stranu vládní opatření a omezení a varianty SARS-CoV-2 se během dvou let často měnily. V prosinci 2020 bylo také zahájeno očkování, ale rozdíly mezi hodnotami Ct neočkovaných a plně očkovaných osob byly zanedbatelné (doplňkový obr. S10). Je zajímavé, že jsme pozorovali přibližně desetinásobný nárůst virové RNA zátěže v analyzovaných materiálech od začátku epidemie až do současnosti. To naznačuje zvýšenou přenositelnost a částečný imunitní únik viru SARS-CoV-2 v průběhu časů²¹. Obalové varianty (Alpha, Beta, Gamma, Delta, Omicron) prokázaly rozdíly v úniku z imunity, virové zátěži a inkubační a vylučovací době. Studie uvádějí vyšší virovou nálož RNA u varianty Alfa ve srovnání s virem předků a ještě vyšší nárůst virové nálože RNA u infekcí s variantou Delta. Na druhé straně byla hlášena nižší virová zátěž u pacientů infikovaných přípravkem Omicron BA.1 než u pacientů infikovaných Delta. Infekce s Omicron BA.2 vedou k vyšším úrovním virové zátěže RNA než u BA.1 (přehled ^{v²²}). Tato pozorování jsou v souladu s trendy středních hodnot Ct na konci roku 2021, protože 3. vlně předcházely stabilně rostoucí střední hodnoty Ct, a proto by nebylo možné předpovědět. Počínaje léty 2022-06 medián hodnot Ct postupně klesal se vznikem varianty BA.2 a doprovodnými změnami ve státní politice omezující populační testování a tím možná i zvyšování podílu testů u

symptomatických jedinců. Ačkoli je srovnání virové zátěže mezi symptomatickými a asymptomatickými jedinci náročné, některé studie prokázaly vyšší virovou nálož u symptomatických jedinců^{23, 24, 25, 26}.

Za druhé jsme analyzovali rozložení hodnot Ct v různých věkových skupinách s cílem identifikovat skupiny, které by mohly nejvíce přispět k šíření infekce. Několik studií se zabývalo vlivem věku na virovou zátěž a výsledky jsou velmi rozporuplné²⁷ –V souhrnu naše data odhalila, že děti trvale měly 4 až 5násobné snížení virové RNA zátěže (odhadem Ct) a dvakrát nižší míru positivity testu než dospělí. To koresponduje se zjištěním, že děti jsou méně náchylné k infekci SARS-CoV-2^{11, 28}, mají tendenci být asymptomatické nebo paucisymptomatické ve srovnání s dospělými^{15, 26} a jen zřídka jsou indexovým případem v přenosových řetězcích v domácnostech^{29, 30}. Děti mají také nižší riziko reinfekce než dospělí³¹. Srovnání s dospělými by mohlo být potenciálně komplikováno rozdílnými riziky expozice v průběhu času, ale analýza poměrů šancí a rozdílů v hodnotách Ct týden po týdnu neukázala, že by souhrnné hodnoty byly výsledkem prodloužených období zavírání škol. Přestože hodnoty Ct a poměry šancí oscilovaly, trendy zůstaly stabilní. Přes všechna tato zjištění bylo testování SARS-CoV-2 v České republice zaměřeno nepřiměřeně na děti. Je třeba poznamenat, že vyšší hodnoty Ct u dětí mohou být způsobeny odlišnou virovou kinetikou (např. nižší vrchol virové zátěže a/nebo rychlejší clearance), ale také rozdíly v trajektoriích epidemie. Naše data nejsou vhodná k posouzení zapojení těchto faktorů.

Za třetí jsme hodnotili výsledky testů ze slin, které byly provedeny jako součást povinného kontrolního testovacího programu ve školách. Vzácnost pozitivních výsledků naznačuje, že toto testování nebylo nákladově efektivní a nezabránilo šíření SARS-CoV-2. Naše výsledky byly v souladu s dalším šetřením, které ukázalo, že děti a učitelé významně nepřispívají k šíření nemoci prostřednictvím docházky do vzdělávacích zařízení, pokud existují strategie kontroly

epidemie a účinné testování pro [populaci](#)³² . Studie epidemií COVID-19 ukázala, že dospělí ve věku 20–49 let jsou hlavními přispěvateli k šíření nemoci před a po znovuotevření škol ⁵ .

Obecně tento výzkum ukazuje několik způsobů, jak by hodnoty Ct mohly být užitečné při studiu epidemií. Za prvé, včasné měření hodnot Ct může identifikovat, které podskupiny jsou pravděpodobněji zasaženy virem. Virová nálož SARS-CoV-2 v horních cestách dýchacích je považována za zástupce rizika přenosu (přezkoumáno v [22](#)). V naší populaci by rané studie naznačovaly nízkou virovou zátěž u dětí, ekvivalentní výsledky při stratifikaci podle pohlaví a vyšší virovou zátěž u starších jedinců. Za druhé, klesající střední hodnoty Ct mohou naznačovat nadcházející epidemický růst, ale zvyšující se střední hodnoty Ct to nevyklučují. Orgány zdravotnického systému by měly zvážit sběr týdenních středních hodnot Ct pozitivně testovaných vzorků z hlavních diagnostických laboratoří pro regionální epidemický dohled. Rovněž výsledky metod, které odhadují dynamiku epidemie na základě hodnot Ct, mohou být zlepšeny, pokud zahrnují informace o věku pozitivních jedinců. Měly by být provedeny další studie, aby se zjistilo, zda se hodnoty Ct lišily od jiných důležitých rizikových faktorů COVID-19, včetně obezity, rasy, rakoviny a imunosuprese.

Dostupnost dat

Naše údaje jsou přístupné výzkumníkům na základě přiměřené žádosti příslušnému autorovi.

Reference

1. Bullard, J. a kol. Infekčnost těžkého akutního respiračního syndromu koronavirus 2 u dětí ve srovnání s dospělými. *CMAJ* **193** , E601–E606. <https://doi.org/10.1503/cmaj.210263> (2021).

[Článek](#) [CAS](#) [PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google Scholar](#)

2. Lyngse, FP *a kol.* Asociace mezi rizikem přenosu SARS-CoV-2, virovou zátěží a věkem: Celostátní studie v dánských domácnostech. *medRxiv*
<https://doi.org/10.1101/2021.02.28.21252608> (2021).

[Článek](#) [Google Scholar](#)

3. Tom, MR & Mina, MJ Při interpretaci testu SARS-CoV-2 zvažte prahovou hodnotu cyklu. *Clin. Infikovat. Dis.* **71** , 2252-2254.
<https://doi.org/10.1093/cid/ciaa619> (2020).

[Článek](#) [CAS](#) [PubMed](#) [Google Scholar](#)

4. Liu, Y. *a kol.* Virová dynamika u mírných a těžkých případů COVID-19. *Lancet Infect. Dis.* **20** , 656-657.
[https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30232-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30232-2) (2020).

[Článek](#) [CAS](#) [PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google Scholar](#)

5. Monod, M. *a kol.* Věkové skupiny, které udržují oživující se epidemie COVID-19 ve Spojených státech. *Science* **371** , 1336.
<https://doi.org/10.1126/science.abe8372> (2021).

[Článek](#) [ADS](#) [CAS](#) [Google Scholar](#)

6. AACC. *Doporučení AACC pro hlášení hodnot prahu cyklu SARS-CoV-2 (CT)* , <https://www.aacc.org/science-and-research/covid-19-resources/statements-on-covid-19-testing/aacc-doporučení-pro-hlášení-sars-cov-2-cyklových-prahových-ct-hodnot> (2021).

7. Hay, JA *a kol.* Odhadování epidemiologické dynamiky z průřezových distribucí virové zátěže. *Science* **373** , 25.
<https://doi.org/10.1126/science.abh0635> (2021).

[Článek](#) [CAS](#) [Google Scholar](#)

8. Walker, AS *a kol.* Prahové hodnoty Ct, které jsou zástupným znakem virové nálože v komunitních případech SARS-CoV-2, vykazují velké rozdíly mezi populacemi a v průběhu času. *Elife* **10**, 256. <https://doi.org/10.7554/eLife.64683> (2021).

[Článek](#) [Google Scholar](#)

9. Yin, N. *a kol.* Využití prahových hodnot cyklu SARS-CoV-2 PCR k předpovědi trendů COVID-19. *Přední. Med.-Lausanne* **8**, 28. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.743988> (2021).

[Článek](#) [ADS](#) [Google Scholar](#)

10. Lin, Y. *et al.* Incorporating temporal distribution of population-level viral load enables real-time estimation of COVID-19 transmission. *Nature Commun.* **13**, 1. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-28812-9> (2022).

[Article](#) [ADS](#) [CAS](#) [Google Scholar](#)

11. Viner, R. M. *et al.* Susceptibility to SARS-CoV-2 infection among children and adolescents compared with adults a systematic review and meta-analysis. *JAMA Pediatr.* **175**, 143–156. <https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2020.4573> (2021).

[Article](#) [PubMed](#) [Google Scholar](#)

12. Irfan, O., Li, J., Tang, K., Wang, Z. & Bhutta, Z. A. Risk of infection and transmission of SARS-CoV-2 among children and adolescents in households, communities and educational settings: A systematic review and meta-analysis. *J. Glob. Health* **11**, 05013. <https://doi.org/10.7189/jogh.11.05013> (2021).

[Article](#) [PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google Scholar](#)

13. Bertozzi, A. L., Franco, E., Mohler, G., Short, M. B. & Sledge, D. The challenges of modeling and forecasting the spread of COVID-19. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **117**, 16732–16738. <https://doi.org/10.1073/pnas.2006520117> (2020).

[Article](#) [ADS](#) [MathSciNet](#) [CAS](#) [PubMed](#) [PubMed Central](#)
[Google Scholar](#)

14. Lipsitch, M., Swerdlow, D. L. & Finelli, L. Defining the epidemiology of Covid-19—studies needed. *N. Engl. J. Med.* **382**, 1194–1196. <https://doi.org/10.1056/NEJMp2002125> (2020).

[Article](#) [CAS](#) [PubMed](#) [Google Scholar](#)

15. Davies, N. G. *et al.* Age-dependent effects in the transmission and control of COVID-19 epidemics. *Nat. Med.* **26**, 1205–1211. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0962-9> (2020).

[Article](#) [CAS](#) [PubMed](#) [Google Scholar](#)

16. Trang, N. V. *et al.* Determination of cut-off cycle threshold values in routine RT-PCR assays to assist differential diagnosis of norovirus in children hospitalized for acute gastroenteritis. *Epidemiol. Infect.* **143**, 3292–3299. <https://doi.org/10.1017/S095026881500059X> (2015).

[Article](#) [CAS](#) [PubMed](#) [Google Scholar](#)

17. Ochoa, V. *et al.* Infants younger than 6 months infected with SARS-CoV-2 show the highest respiratory viral loads. *J. Infect. Dis.* **225**, 392–395. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiab577> (2022).

[Article](#) [CAS](#) [PubMed](#) [Google Scholar](#)

18. Yang, D. *et al.* Bimodal distribution pattern associated with the PCR cycle threshold (Ct) and implications in COVID-19 infections. *Res. Square*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1340499/v1> (2022).

[Article](#) [Google Scholar](#)

19. Piubelli, C. *et al.* Overall decrease in SARS-CoV-2 viral load and reduction in clinical burden: The experience of a hospital in northern Italy. *Clin. Microbiol. Infect.* **27**, 131. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.10.006> (2021).

[Article](#) [CAS](#) [Google Scholar](#)

20. Jones, T. C. *et al.* Estimating infectiousness throughout SARS-CoV-2 infection course. *Science* **373**, 6551. <https://doi.org/10.1126/science.abi5273> (2021).

[Article](#) [CAS](#) [Google Scholar](#)

21. Bushman, M., Kahn, R., Taylor, B. P., Lipsitch, M. & Hanage, W. P. Population impact of SARS-CoV-2 variants with enhanced transmissibility and/or partial immune escape. *Cell* **184**, 6229–6242. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.11.026> (2021).

[Article](#) [CAS](#) [PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google Scholar](#)

22. Puhach, O., Meyer, B. & Eckerle, I. SARS-CoV-2 viral load and shedding kinetics. *Nat. Rev. Microbiol* **1–15**, 2022. <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00822-w> (2022).

[Article](#) [CAS](#) [Google Scholar](#)

23. Kociolek, L. K. *et al.* Comparison of upper respiratory viral load distributions in asymptomatic and symptomatic children diagnosed with SARS-CoV-2 infection in pediatric hospital testing programs. *J. Clin. Microbiol.* **59**, 1. <https://doi.org/10.1128/JCM.02593-20> (2021).

[Article](#) [Google Scholar](#)

24. Zhou, R. *et al.* Viral dynamics in asymptomatic patients with COVID-19. *Int. J. Infect. Dis.* **96**, 288–290. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.05.030> (2020).

[Article](#) [CAS](#) [PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google Scholar](#)

25. Hall, S. M. *et al.* Comparison of anterior nares CT values in asymptomatic and symptomatic individuals diagnosed with SARS-CoV-2 in a university screening program. *PLoS ONE* **17**, e0270694. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0270694> (2022).

[Article](#) [CAS](#) [PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google Scholar](#)

26. Chung, E. *et al.* Comparison of symptoms and RNA levels in children and adults with SARS-CoV-2 infection in the community setting. *JAMA Pediatr.* **175**, 256. <https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2021.2025> (2021).

[Article](#) [Google Scholar](#)

27. Walsh, K. A. *et al.* SARS-CoV-2 detection, viral load and infectivity over the course of an infection. *J. Infect.* **81**, 357–371. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.06.067> (2020).

[Article](#) [CAS](#) [PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google Scholar](#)

28. Gudbjartsson, D. F. *et al.* Spread of SARS-CoV-2 in the icelandic population. *N. Engl. J. Med.* **382**, 2302–2315. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2006100> (2020).

[Article](#) [CAS](#) [PubMed](#) [Google Scholar](#)

29. Zhu, Y. S. *et al.* A meta-analysis on the role of children in severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 in household transmission clusters. *Clin. Infect. Dis.* **72**, E1146–E1153. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa1825> (2021).

[Article](#) [CAS](#) [PubMed](#) [Google Scholar](#)

30. Maltezou, H. C. *et al.* Children and adolescents with SARS-CoV-2 infection epidemiology, clinical course and viral loads. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **39**, E388–E392. <https://doi.org/10.1097/Inf.0000000000002899> (2020).

[Article](#) [PubMed](#) [Google Scholar](#)

31. Mensah, A. A. *et al.* Risk of SARS-CoV-2 reinfections in children: A prospective national surveillance study between January, 2020, and July, 2021, in England. *Lancet Child Adolesc. Health* **6**, 384–392. [https://doi.org/10.1016/S2352-4642\(22\)00059-1](https://doi.org/10.1016/S2352-4642(22)00059-1) (2022).

[Article](#) [CAS](#) [PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google Scholar](#)

32. Macartney, K. *et al.* Transmission of SARS-CoV-2 in Australian educational settings: A prospective cohort study. *Lancet Child Adolesc. Health* **4**, 807–816. [https://doi.org/10.1016/S2352-4642\(20\)30251-0](https://doi.org/10.1016/S2352-4642(20)30251-0) (2020).

[Article](#) [CAS](#) [PubMed](#) [PubMed Central](#) [Google Scholar](#)

[Download references](#) ↓

Acknowledgements

This work was supported by the OP Integrated Infrastructure, the project: Research on COVID-19 progressive diagnostic methods and biomarkers useful in early detection of individuals at increased risk of severe disease, ITMS: 313011ATA2, co-financed by the European Regional Development Fund and by the Slovak Research and

Development Agency under the Contract no. PP-COVID-20-0056 and by grant NU22-A-123 from the Ministry of Health of the Czech Republic.

Author information

Author notes

1. These authors contributed equally: Dita Musalkova, Lenka Piherova and Ondrej Kwasny.

Authors and Affiliations

1. Research Unit of Rare Diseases, Department of Paediatric and Adolescent Medicine, First Faculty of Medicine, Charles University in Prague and General University Hospital in Prague, Prague, Czech Republic

Dita Musalkova, Lenka Piherova, Hana Hartmannova, Anthony J. Bleyer & Stanislav Kmocho

2. SPADIA LAB, Ostrava, Czech Republic

Ondrej Kwasny, Zuzana Dindova, Lubor Stancik, Josef Pargac & Martin Radina

3. Faculty of Safety Engineering, Technical University of Ostrava, Ostrava, Czech Republic

Otomar Slama

4. Charles University Innovations Prague, Prague, Czech Republic

Otomar Slama

5. Regional Authority of the Central Bohemia Region, Prague, Czech Republic

Petra Peckova

6. Medirex Group Academy, Trnava, Slovakia

Gabriel Minarik & Stanislav Kmoch

7. Institute of Medical Biochemistry and Laboratory Diagnostics,
General University Hospital and the First Faculty of Medicine of
Charles University, Prague, Czech Republic

Tomas Zima

8. Section on Nephrology, Wake Forest School of Medicine,
Winston-Salem, NC, USA

Anthony J. Bleyer & Stanislav Kmoch

9. GeneSpector, Prague, Czech Republic

Michal Pohludka & Stanislav Kmoch

Contributions

D.M. and L.P. contributed to the data cleaning, data analysis and figure creation. O.K., Z.D., L.S., H.H., O.S., J.P., and G.M. were responsible for laboratory analysis, data collection and data management. P.P. and M.P. were the executive coordinators of the school testing. A.J.B. critically reviewed and edited the manuscript and contributed to the interpretation of results. T.Z., M.R., M.P. and S.K. were the executive coordinators, conceived the study design, and supervised the project. All authors read and approved the final manuscript.

Corresponding author

Correspondence to [Stanislav Kmoch](#).

Ethics declarations

Competing interests

The authors declare no competing interests.

Additional information

Publisher's note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Supplementary Information

Supplementary Information 1.

Supplementary Figures.

Supplementary Tables.

Rights and permissions

Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

Reprints and Permissions

About this article



Check for
updates

Cite this article

Musalkova, D., Piherova, L., Kwasny, O. *et al.* Trends in SARS-CoV-2 cycle threshold values in the Czech Republic from April 2020 to April 2022. *Sci Rep* **13**, 6156 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-32953-2>

Download citation ↓

- Received 05 October 2022
- Accepted 05 April 2023
- Published 15 April 2023
- DOI (identifikátor digitálních objektů) <https://doi.org/10.1038/s41598-023-32953-2>

Share this article

Anyone you share the following link with will be able to read this content:

Provided by the Springer Nature SharedIt content-sharing initiative

Subjects

Comments

Odesláním komentáře souhlasíte s tím, že se budete řídit našimi Podmínkami a Pokyny pro komunitu. Pokud najdete něco urážlivého nebo co není v souladu s našimi podmínkami nebo pokyny, označte to jako nevhodné.