

Hodnotenie početnosti, pozitivity a Ct hodnôt SARS-CoV-2 detekcie na Slovensku v čase pandémie COVID-19 – deti verzus dospelí jedinci

Nikola Janoštiaková¹, Andrej Gnip², Dominik Kodada¹, Gabriela B'andová¹, Emília Miková², Elena Tibenská², Vanda Repiská¹, Gabriel Minárik³

¹Univerzita Komenského v Bratislave Lekárska fakulta, Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky, Bratislava

²Medirex, a. s., Pezinok

³MEDIREX GROUP ACADEMY, n. o., Nitra

Vplyv infekcie SARS-CoV-2 na detskú populáciu v porovnaní s dospelými nie je doteraz presne objasnený. Detegované prahové hodnoty cyklu (Ct) pri RT-qPCR SARS-CoV-2 diagnostike sú nepriamoúmerné vírusovej záťaži – test nepriamo kvantifikuje počet kópií vírusovej RNA vo vzorke. Cieľom tejto štúdie bolo determinovať a štatisticky podložiť možnú koreláciu medzi rozdielnymi priemernými Ct hodnotami a vekom pozitívne testovaných jedincov v kategorizovaných skupinách maloletých a dospelých.

Kľúčové slová: SARS-CoV-2, COVID-19, pandémia, Slovensko, Ct hodnoty, deti, vírusová záťaž

Evaluation of the frequency, positivity and Ct values of SARS-CoV-2 detection in Slovakia during the COVID-19 pandemic – children versus adults

The impact of SARS-CoV-2 infection on the pediatric population compared to adults is not yet clearly understood. The detected cycle threshold values (Ct) in RT-qPCR SARS-CoV-2 diagnostics are inversely proportional to the viral load – the test indirectly quantifies and determines the number of viral RNA copies in the sample. This study aimed to determine and statistically substantiate a possible correlation between different average Ct values and the age of positively tested individuals in the categorized groups of children, adolescents and adults.

Keywords: SARS-CoV-2, COVID-19, pandemic, Slovakia, Ct values, children, viral load

NewsLab, 2023; roč. 14 (1): 17 – 20

Úvod

Ako je už v súčasnosti známe, ochorenie COVID-19 vyvolané vírusom SARS-CoV-2 spôsobilo celosvetovú pandémiu, ktorá viedla ku globálnej núdzovej situácii v oblasti verejného zdravotníctva z dôvodu vysokej rýchlosti šírenia infekcie, širokého spektra klinických prejavov vo všetkých vekových skupinách a vysokej úmrtnosti najmä u dospelých osôb⁽¹⁾.

Takisto je známe, že prvotne boli kontrolné opatrenia na Slovensku aj vo svete zamerané na detekciu a následnú izoláciu potvrdených prípadov a taktiež karanténu kontaktných osôb pozitívnych prípadov⁽²⁾. Sekvenovanie genómu SARS-CoV-2 umožnilo vývoj testu reverznej transkripčnej polymerázovej reťazovej reakcie v reálnom čase (RT-qPCR) na detekciu a relatívnu kvantifikáciu vírusovej nálože. Táto technika je aktuálne stále zlatým štandardom pre diagnostiku ochorenia COVID-19. RT-qPCR diagnostika deteguje rôzne štrukturálne oblasti kódované génmi: S (*Spike*), E (*Envelope*), N (*Nucleocapsid*), RdRp (*RNA-dependent RNA polymerase*) a ORF1ab (*polyprotein*). Vo všeobecnosti boli RT-qPCR diagnostické súpravy primárne navrhnuté pre kvalitatívnu detekciu SARS-CoV-2 („detegovaná“ alebo „nedetegovaná“ prítomnosť SARS-CoV-2 transkriptov), no uvádzané prahové hodnoty cyklu (Ct) reprezentujúce počet cyklov amplifikácie potrebných na to, aby fluorescenčný signál prekročil úroveň pozadia, je možné využiť na semikvantitatívny odhad vírusovej nálože⁽³⁾.

Ct hodnoty sú nepriamoúmerné vírusovej náloži a poskytujú možnosť kvantifikácie počtu kópií vírusovej nukleovej kyseliny (RNA) vo vzorkách^(4,5). Hodnoty sú ovplyvnené preanalytickými, analytickými a postanalytickými premennými. Správna interpretácia týchto faktorov je rozhodujúca pre odhad korelácie medzi vírusovou záťažou a závažnosťou ochorenia. Systematický prehľad klinickej užitočnosti prahových hodnôt cyklu naznačil, že Ct hodnoty sú užitočné na predpovedanie klinického výsledku u pacientov s ochorením COVID-19^(5,6).

Už na začiatku pandémie existoval predpoklad, že dospelí jedinci budú mať závažnejší priebeh SARS-CoV-2 infekcie ako deti, informácie o etiológii choroby u detí však boli obmedzené. To prinieslo dlhé obdobia karantén, zatvárania škôl, prechodov na online výučbu, čoho následkom boli/sú početné psychologické a sociálno-emocionálne komplikácie u maloletých^(7,8). Okrem problémov s duševným zdravím boli u žiakov s distančnou výučbou zaznamenané zmeny týkajúce sa nezdravého priberania na váhe, oneskorenej imunizácie či prudkého nárastu počtu novovzniknutého diabetu 2. typu. Tieto priame dôsledky zatvorenia škôl môžu byť predzvesťou dlhodobých komplikácií vrátane zníženej priemernej dĺžky života školákov⁽⁸⁾. Pochopenie charakteristík a klinických prejavov ochorenia COVID-19 u detí je preto kľúčové.

Nedávny systematický prehľad a metaanalýza zahŕňajúca 37 štúdií o ochorení COVID-19 u detí potvrdila predchádzajúce tvrdenia o relatívne miernom priebehu ochorenia u mladších detí, ktorých symptómy zahŕňajú najčastejšie horúčku (48,5 %) a kašeľ (40,6 %) (9), čo pravdepodobne súvisí s nižšou vírusovou záťažou u detských pacientov v porovnaní s dospelými jedincami (10). Už v úvode pandémie bolo preukázané, že SARS-CoV-2 využíva na vstup do hostiteľskej bunky proteín prítomný na jej povrchu, enzým konvertujúci angiotenzín 2 (ACE2). Štúdie naznačujú, že expresia ACE2 je závislá od tkaniva aj veku, pričom najvyššia expresia ACE2 je v nosovom epiteli zdravých dospelých jedincov. Nižšia expresia ACE2 je, naopak, detegovaná v horných a dolných dýchacích cestách u detí, na základe čoho sa predpokladá, že tieto rozdiely prispievajú k zníženiu závažnosti ochorenia u detí. Autori Yoshida a kol. výsledkami ich nedávneho výskumu naznačujú, že za obmedzenú replikáciu vírusu a progresiu ochorenia COVID-19 u detí zodpovedajú vyššie detské vrodené interferónové reakcie (11). Doteraz však nie je úplne jasné, prečo má ochorenie COVID-19 u detí zvyčajne miernejší charakter.

Cieľom tejto štúdie bolo posúdiť koreláciu medzi epidemiologickými znakmi u detí a dospelých jedincov. Výsledky zahŕňajú dáta z diagnostického testovania SARS-CoV-2 na Slovensku s rozsahom definovaným mierou vykonaných testov v laboratóriách Medirex, a. s. Počet údajov z tejto štúdie je robustný a predstavuje viac ako 1,4 milióna hodnotených RT-qPCR testov. Dátumový výber údajov zahŕňa celú časovú os masívnej SARS-CoV-2 detekcie v rámci Slovenskej republiky. Zaujímali nás najmä parametre z hľadiska rozdielov v pozitívite a vo vírusovej záťaži (odhadované pomocou hodnôt Ct) medzi charakterizovanými vekovými podskupinami. Naše poznatky o trendoch pandémie v kontexte vekových podskupín v slovenskej populácii možno využiť na efektívnejšie nastavenie diagnostiky aj manažmentu opatrení pri prírodných budúcich epidémiách/ pandemiách.

Metódy

Štúdia analyzovala dáta poskytnuté akreditovaným laboratóriom Medirex, a. s. Údaje predstavujú výsledky 1 420 572 RT-qPCR testov jedincov pred plánovanou hospitalizáciou, jedincov s príznakmi ochorenia a/alebo kontaktom s pozitívne testovanou osobou, jedincov po pozitívnom výsledku antigénového testu (12), samoplatcov bez selekcie; z dátumového obdobia od marca 2020 do septembra 2022.

Automatizovaná izolácia nukleovej kyseliny (RNA) na magnetických časticach bola uskutočnená pomocou súprav Sera-Xtracta Virus /Pathogen Kit (Cytiva) a Zybio Nucleic Acid Extraction Kit (Zybio) s využitím systému KingFisher™ Flex

Purification System (Thermo Scientific) a Zybio EXM 3000 Nucleic Acid Isolation System/ Zybio EXM 6000 Nucleic Acid Isolation System (Zybio). Testovanie sa uskutočnilo metódou RT-qPCR s použitím súprav COVID-19 Real Time Multiplex RT-PCR Kit (Labsystems Diagnostics), SARS-CoV-2 Nucleic Acid Detection Kit (Zybio) a Real Time Multiplex RT-PCR Kit (Liferiver) pomocou qPCR platforiem ABI 7500 (Fast) Real-Time PCR System (Applied Biosystems), QuantStudio 5 a QuantStudio 6 Real-Time PCR System (ThermoFisher). Údaje získané pre každý test zahŕňali denné číslo vzorky, dátum odberu, ID pacienta, vek, pohlavie, miesto odberu vzorky, výsledok testu a v prípade pozitívneho výsledku aj hodnotu Ct vírusového génu E – hraničná hodnota do 40 (pre kit SARS-CoV-2 Nucleic Acid Detection Kit (Zybio) alebo 41 (pre kity Real Time Multiplex RT-PCR Kit (Labsystems Diagnostics) a Real Time Multiplex RT-PCR Kit (Liferiver) – t. j. sekvencia nukleovej kyseliny bola identifikovaná v čase, keď PCR prešla 39 alebo 40 cyklami. Hodnota Ct bola spolu s pozitívnym výsledkom testu laboratóriom Medirex, a. s., uvádzaná a archivovaná od 3. decembra 2020, čo vysvetľuje nižšiu početnosť pozitívnych PCR testov s uvedenou Ct hodnotou v porovnaní s celkovým počtom pozitívnych PCR testov v rámci tejto štúdie.

Údaje boli kategorizované do 5 skupín podľa veku, resp. úrovne navštevovanej školy: novorodenci + batolata + deti predškolského veku (0 – 5 r.), žiaci ZŠ (6 – 13 r.), žiaci SŠ (14 – 19 r.), študenti VŠ + dospelí (20 – 65 r.) a seniori (> 65 r.).

Na porovnanie kategórií údajov a kontrolu korelácií údajov boli využité štatistické testy. Na porovnanie hodnôt pozitívnosti bol použitý Fisherov exaktný test a na porovnanie hodnôt Ct Welchov t-test medzi vekovými kategóriami. Spolu bolo vykonaných 20 štatistických testov, na základe tohto počtu bola aplikovaná Bonferroniho korekcia pre úpravu prahu významnosti p-hodnoty – ako prahová hodnota bola využitá hodnota 0,0025 namiesto 0,05.

Výsledky

Celková pozitivita analyzovaných testov predstavovala 24,64 % (350 067 testov), pričom najvyššiu mieru pozitívnosti (nad 30 %) dosiahli vekové kategórie: 6 – 13 r., 14 – 19 r. (tabuľka 1). Na základe Fisherovho exaktného testu bolo preukázané, že rozdiely v pozitívite medzi všetkými dvojicami vekových skupín boli signifikantne významné (p-hodnota < 0,0025).

Obrázok 1 znázorňuje rozdelenie Ct hodnôt v závislosti od veku jedincov. Husľový graf preukazuje postupné znižovanie hodnôt mediánu Ct spolu so zvyšujúcim sa vekom kategorizovaných skupín, výnimkou je veková skupina seniorov > 65 r. Najvyššia hodnota mediánu Ct bola zistená vo veko-

Tabuľka 1. Počet pozitívnych/negatívnych RT-qPCR testov a celková pozitivita pre jednotlivé vekové kategórie.

Veková skupina	Počet pozitívnych testov	Počet negatívnych testov	Celkový počet testov	Pozitivita (%)
0 – 5 r.	6 563	23 474	11,079	21,85 %
6 – 13 r.	36 882	63 656	18,958	36,69 %
14 – 19 r.	28 822	55 511	31,801	34,18 %
20 – 65 r.	244 965	793 982	68,737	23,58 %
> 65 r.	32 835	133 882	27,951	19,70 %
Celkovo	350 067	1 070 505	1 420 572	24,64 %

vej skupine 0 – 5 r., rovná sa číslu 29,79. Najnižšia hodnota mediánu Ct bola zistená v skupine 20 – 65 r., rovná sa číslu 26,67. Vo vekovej skupine seniorov > 65 r. bola preukázaná hodnota mediánu Ct 26,70. Signifikantné rozdiely v mediáne Ct boli preukázané na základe Welchovho t-testu medzi všetkými dvojicami vekových skupín (p-hodnota < 0,0025) s výnimkou dvojice 20 – 65 r. a > 65 r. (p-hodnota 0,17).

Diskusia

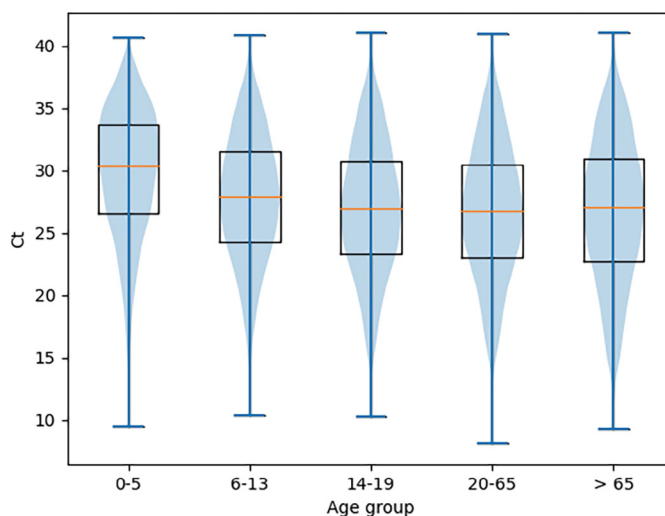
Existuje niekoľko faktorov, ktoré môžu potenciálne ovplyvniť zistené Ct hodnoty vrátane typu vzorky (napr. nosohltanová, predná sliznica nosa, sliny, spútum) alebo účinnosti odberu (neinvasívne odbery môžu viesť k nepresnostiam výsledkov)⁽¹³⁾. Detekcia nižších hodnôt Ct u detí môže súvisieť s kvalitou odberu⁽¹⁴⁾. Odbery slín sa zaviedli do praxe práve pre komplikácie odberov z nosohltana v určitých skupinách jedincov – výraznú bolesť pri výteroch z nosohltana opísalo 58 % mladých ľudí oproti žiadnej pri odbere slín, pričom 90 % detí preferuje odber vzoriek slín⁽¹⁵⁾. Výsledky viacerých štúdií demonštrujú, že detekcia SARS-CoV-2 zo vzoriek slín funguje rovnako alebo dokonca lepšie ako výtery z nosa a hltana⁽¹⁶⁻¹⁹⁾, no priemerná Ct hodnota v slinách môže byť vyššia v porovnaní s priemernou Ct hodnotou z nazofaryngálnych výterov⁽²⁰⁾. Preto sa ako vhodnejšia vzorka na diagnostiku RT-qPCR zvyčajne odporúča kombinovaný výter z nosa a hrdla⁽¹³⁾. Keďže sme do tejto štúdie chceli zahrnúť všetky vzorky od marca 2020 do septembra 2022 poskytnuté laboratóriom Medirex s priradeným pozitívnym/negatívnym výsledkom, údaje zahŕňajú nazofaryngálne výtery aj vzorky slín. Výsledky reprezentujúce detekciu SARS-CoV-2 zo vzoriek slín však predstavujú menej ako 5 % všetkých vzoriek, a preto nepredpokladáme, že by táto skutočnosť mohla ovplyvniť celkovú výpovednú hodnotu priemerných hodnôt Ct pre údaje tejto štúdie.

Predbežné dôkazy naznačujú, že u detí infikovaných SARS-CoV-2 je nižšia pravdepodobnosť, že sa u nich rozvinú symptómy alebo závažný priebeh ochorenia COVID-19⁽²¹⁾. Z hľadiska vírusovej záťaže odhadovanej na základe detegovanej Ct hodnoty boli preukázané signifikantne nižšie Ct hodnoty u dospievajúcich a dospelých jedincov v porovnaní s deťmi mladšími ako 10 rokov⁽²²⁾, čo naznačuje, ktoré vekové kategórie môžu viac, resp. menej prispievať k šíreniu infekcie. V našej štúdií sme analyzovali, či a ako stredné Ct hodnoty RT-qPCR korelujú s vekom a výskytom infekcie SARS-CoV-2 v subpopulácii slovenských obyvateľov testovaných v jednom akreditovanom laboratóriu.

Skutočná lokálna prevalencia a počet vykonaných testov ovplyvňujú hodnotu miery pozitivity. Vo všeobecnosti, čím viac testov je zrealizovaných, tým sa miera pozitivity bude približovať ku skutočnej prevalencii⁽²³⁾. Analyzované testy tejto štúdie predstavujú > 19 % všetkých diagnostických PCR testov na Slovensku (za daný dátumový interval), takže by mali byť reprezentatívne pre populáciu.

Biomedicínsky výskum sa aktuálne spolieha na p-hodnoty ako deterministickú mieru pri rozhodovaní založenom na údajoch, kde sa zo vzoriek dát vypočítava jedna p-hodnota, aby sa určili štatisticky významné rozdiely medzi pozorovanými skupinami. Pretože odhadovaná p-hodnota má tendenciu klesať so zvyšujúcou sa veľkosťou vzorky, aplikácia tejto metódy na súbory údajov s veľkou početnosťou vzoriek

Obrázok 1. Distribúcia Ct pozitívnych diagnostických testov v kategorizovaných vekových skupinách. Údaje sú zobrazené ako husľové grafy, jednotlivé boxploty sú doplnené o príslušné mediány Ct (oranžové úsečky).



vedie k vyššej pravdepodobnosti zamietnutia nulovej hypotézy⁽²⁴⁾, čo sa odrazilo aj v našich údajoch (viac ako 1,4 mil. RT-qPCR testov). Táto skutočnosť pravdepodobne prispela k preukázaniu výrazných rozdielov v pozitívite a priemerných hodnotách Ct medzi takmer všetkými kategorizovanými vekovými skupinami. To však neznamená, že pozorovaný význam nie je skutočný. Naopak, nízke p-hodnoty sú prítomné pri veľkých veľkostiach vzoriek, pretože robustnosť údajov znamená, že aj malý rozdiel s väčšou pravdepodobnosťou odráža skutočný základný rozdiel medzi dvoma súbormi údajov. Graf na **obrázku 1** determinuje, že pokles mediánu Ct bol v súlade so zvyšujúcim sa vekom v kategorizovaných podskupinách, čo je podložené aj zistením, že SARS-CoV-2 pozitívne deti sú zriedkavo „prípados indexu“ v prenosových reťazcoch v rodinách, resp. domácnostiach⁽²⁵⁾. Hoci naše výsledky nie je možné priamo použiť pri analýze efektu zatvárania škôl ako potenciálnych ohnísk komunitného šírenia COVID-19, poukazujú na to, že na šírení pandémie sa deti školského veku podieľali menšou mierou ako dospelí. K porovnateľným výsledkom dospeli autori z partnerských laboratórií Spadia, a. s., pričom v ich prípade bolo možné túto domnienku s ohľadom na dôsledné sledovanie šírenia pandémie práve so zameraním na otváranie a zatváranie škôl v Českej republike potvrdiť⁽²⁶⁾.

Podakovanie

Táto publikácia vznikla vďaka podpore v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Výskum progresívnych metód diagnostiky COVID-19 a biomarkerov umožňujúcich skorú detekciu jedincov so zvýšeným rizikom ťažkého priebehu ochorenia, kód ITMS: 313011ATA2, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja a s podporou Agentúry na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. PP-COVID-20-0056.

Doplnkové informácie

Tabuľka so všetkými vzorkami zahrnutými do analýzy je dostupná v podobe .xls súboru (ST – Supplementary table) na vyžiadanie od autora.

LITERATÚRA

1. Wu P, Hao X, Lau EHY, et al. Real-time tentative assessment of the epidemiological characteristics of novel coronavirus infections in Wuhan, China, as at 22 January 2020. *Euro Surveill.* 2020; 25: 2000044.
2. Rattan A, Ahmad H. Can quantitative RT-PCR for SARS-CoV-2 help in better management of patients and control of coronavirus disease 2019 pandemic. *Indian J Med Microbiol.* 2020; 38: 284–287.
3. Bustin SA, Mueller R. Real-time reverse transcription PCR (qRT-PCR) and its potential use in clinical diagnosis. *Clin Sci (Lond).* 2005; 109: 365–379.
4. Mackay IM. Real-time PCR in the microbiology laboratory. *Clin Microbiol Infect.* 2004; 10(3): 190–212.
5. Rao SN, Manissero D, Steele VR, et al. A Systematic Review of the Clinical Utility of Cycle Threshold Values in the Context of COVID-19. *Infect Dis Ther* 2020; 9(3): 573–586.
6. Tom MR, Mina MJ. To Interpret the SARS-CoV-2 Test, Consider the Cycle Threshold Value. *Clin Infect Dis* 2020; 71(16): 2252–2254.
7. Hen M, Shenaar-Golan V, Yatzker U. Children and Adolescents' Mental Health Following COVID-19: The Possible Role of Difficulty in Emotional Regulation. *Front Psychiatry.* 2022; 13: 865435.
8. Dooley DG, Rhodes H, Bandealy A. Pandemic Recovery for Children—Beyond Reopening Schools. *JAMA Pediatr.* 2022; 176(4): 347–348.
9. Qi K, Zeng, W, Ye, M, et al. Clinical, laboratory, and imaging features of pediatric COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)* 2021; 100(15): e25230.
10. Jones TC, Biele G, Mühlemann B, et al. Estimating infectiousness throughout SARS-CoV-2 infection course. *Science.* 2021; 373(6551): ea-bi5273.
11. Yoshida M, Worlock KB, Huang N, et al. NU SCRIPT Study Investigators; Reynolds G, Haniffa M, Bowyer GS, Coates M, Clatworthy MR, Calero-Nieto FJ, Göttgens B, O'Callaghan C, Sebire NJ, Jolly C, De Coppi P, Smith CM, Misharin AV, Janes SM, Teichmann SA, Nikolić MZ, Meyer KB. Local and systemic responses to SARS-CoV-2 infection in children and adults. *Nature.* 2022; 602(7896): 321–327.
12. <https://www.health.gov.sk/Clanok?test-pcr-ochorenie> dostupné dňa 5. 4. 2023
13. Yoo HM, Kim IH, Kim S. Nucleic Acid Testing of SARS-CoV-2. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22, 6150.
14. <https://www.aacc.org/science-and-research/covid-19-resources/statements-on-covid-19-testing/aacc-recommendation-for-reporting-sars-cov-2-cycle-threshold-ct-values> dostupné dňa 24. 3. 2023
15. Gagnon F, Bhatt M, Zemek R, et al. Nasopharyngeal swabs vs. saliva sampling for SARS-CoV-2 detection: A cross-sectional survey of acceptability for caregivers and children after experiencing both methods. *PLoS one.* 2020; 7(7), e0270929.
16. Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet.* 2020; 395(10223): 497–506.
17. Ponti G, Maccaferri M, Ruini C, et al. Biomarker associated with COVID-19 disease progression. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2020: 1–11.
18. Zaninotto M, Mion M, Cosma C, et al. Presepsin in risk stratification of SARS-CoV-2 patients. *Clin Chim Acta.* 2020; 507: 161–163.
19. Hansen CB, Bayarri-Olmos R, Kristensen MK, et al. Complement related pattern recognition molecules as markers of short-term mortality in intensive care patients. *J Infect.* 2020; 80(4): 378–387.
20. Torres M, Collins K, Corbit M, et al. Comparison of saliva and nasopharyngeal swab SARS-CoV-2 RT-qPCR testing in a community setting. *J infect.* 2021; 82(4): 84-123.
21. <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/89980> dostupné dňa 25. 4. 2023.
22. Bullard J, Funk D, Dust K, et al. Infectivity of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 in children compared with adults. *CMAJ.* 2021; 193: E601–E606.
23. Montesinos-López JC, Daza-Torres ML, García YE, et al. The Role of SARS-CoV-2 Testing on Hospitalizations in California. *Life* 2021; 11(12): 1336.
24. Gómez-de-Mariscal E, Guerrero V, Sneider A. et al. Use of the p-values as a size-dependent function to address practical differences when analyzing large datasets. *Sci Rep.* 2021; 11, 20942.
25. Zhu YS, Bloxham CJ, Hulme KD, et al. Meta-analysis on the Role of Children in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 in Household Transmission Clusters. *Clin. Infect. Dis.* 2021; 72(12): E1146-E53.
26. 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.* 2023; 13(1): 6156.

Mgr. Nikola Janoštiaková

Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky, LF UK Bratislava

Špitálska 24, 811 08 Bratislava

e-mail: n.janostiakova@gmail.com