

К ВОПРОСУ О ТОЧНОСТИ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ COVID-2019

А.Н. Куличенко, Н.С. Саркисян

ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия

Резюме. Рассмотрены вопросы точности (чувствительности и специфичности) ПЦР-анализа в зависимости от особенностей выполнения преаналитического и аналитического этапов лабораторной диагностики COVID-19, а также сравнение результатов полимеразной цепной реакции (ПЦР) и компьютерной томографии (КТ) легких. В настоящее время основным методом диагностики новой коронавирусной инфекции COVID-19 является молекулярно-генетический тест — ПЦР. По данным на 1 ноября 2020 г. методом ПЦР в мире проведено более 750 млн исследований. Накопленный к настоящему времени опыт позволяет оценить диагностическую чувствительность метода в 82–91%, специфичность — в 99–100%. Имеются данные о повышении чувствительности ПЦР при повторном исследовании образцов из верхних дыхательных путей, которая составила 82,2% при первичном анализе и 90,6% после двух последовательных тестов. На точность анализа оказывает влияние целый ряд факторов. Причинами ложноотрицательных результатов молекулярных тестов могут быть недостаточное количество генетического материала вируса в пробе, сроки и погрешности при отборе биологических образцов. Установлено, что РНК вируса SARS-CoV-2 с максимальной диагностической чувствительностью выявляется в верхних дыхательных путях за 1–3 дня до появления симптомов и далее в течение 5–6 дней после начала болезни. В этот период наблюдается наивысший риск передачи возбудителя инфекции. На второй неделе болезни отмечается увеличение частоты детекции вирусной РНК в бронхо-легочном материале. Продолжительность детекции маркеров вируса (в том числе при отсутствии жизнеспособных форм) коррелирует с тяжестью заболевания и может достигать 1–2 мес. Другая реальная проблема ПЦР-анализа — возможность ложноположительных ответов. Ее решение требует высокого уровня организации лабораторных исследований, особенно при их значительных объемах. При этом важно, что положительные ответы ПЦР означают присутствие в образце не жизнеспособного вируса, а только фрагментов его РНК. Отмечено, что ПЦР-анализ имеет большую специфичность по сравнению с КТ, которая не дает возможности отличить пневмонию, вызванную SARS-CoV-2, от пневмоний другой этиологии (до 25% ложноположительных ответов). Но диагностическая чувствительность КТ составляет 97,2%, что превышает значение этого показателя для ПЦР на 10–15%. Сделано заключение, что только комплексный подход с использованием ПЦР и КТ, с учетом особенностей этих методов и факторов, влияющих на точность получаемых данных, позволяет правильно интерпретировать результаты диагностики.

Ключевые слова: COVID-19, вирус SARS-CoV-2, диагностическая чувствительность, аналитическая чувствительность, ОТ-ПЦР, компьютерная томография.

TO THE QUESTION REGARDING ACCURACY OF COVID-2019 LABORATORY DIAGNOSTICS

Kulichenko A.N., Sarkisyan N.S.

Stavropol Plague Control Research Institute, Stavropol, Russian Federation

Abstract. Issues of accuracy (sensitivity and specificity) of PCR-analysis depending on features of performing preanalytical and analytical stages of laboratory diagnostics of COVID-19, as well as comparing PCR and lung computed tomography (CT)

Адрес для переписки:

Саркисян Нушик Саакювна
355035, Россия, г. Ставрополь, ул. Советская, 13–15,
ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора.
Тел.: 8 (962) 425-01-29.
E-mail: nyshik25@yandex.ru

Contacts:

Nushik S. Sarkisyan
355035, Russian Federation, Stavropol, Sovetskaya str., 13–15,
Stavropol Plague Control Research Institute.
Phone: +7 (962) 425-01-29.
E-mail: nyshik25@yandex.ru

Для цитирования:

Куличенко А.Н., Саркисян Н.С. К вопросу о точности лабораторной диагностики COVID-2019 // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11, № 1. С. 9–16. doi: 10.15789/2220-7619-TTQ-1622

Citation:

Kulichenko A.N., Sarkisyan N.S. To the question regarding accuracy of COVID-2019 laboratory diagnostics // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2021, vol. 11, no. 1, pp. 9–16. doi: 10.15789/2220-7619-TTQ-1622

results have been analyzed in the study. Currently, a molecular genetic test based on polymerase chain reaction (PCR) is used for diagnostics of a new coronavirus infection (COVID-19). As of November 1, 2020, more than 750 million PCR tests have been conducted globally. Evidence accumulated by now allows to estimate diagnostic sensitivity and specificity of the SARS-CoV-2-specific PCR as high as 82–91% and 99–100%, respectively. In addition, increased PCR sensitivity may be noted upon performing repeated testing of the upper respiratory tract samples comprising 82.2% during the primary analysis that was further elevated up to 90.6% after two consecutive tests. A whole set of factors affect the PCR accuracy. In particular, false negative data might result from insufficient amount of virus-coupled genetic material in the sample, timeframe and mistakes made upon selecting biological samples. It was found that SARS-CoV-2 virus RNA was detected at the maximum diagnostic sensitivity in the upper respiratory tract 1–3 days before the onset of symptoms and sustained within the 5–6 days after disease onset. Such period of time is associated with the peak risk of SARS-CoV-2 transmission. On week 2 after disease onset, there have been noted elevated rate of detecting viral RNA in bronchopulmonary samples. The duration of detecting virus-related markers (including those found in the absence of viable virus forms) correlates with disease severity and may last for as long as 1–2 months. Another real-world issue related to PCR analysis is posed by an opportunity of obtaining false positive data, which solution requires high level organized laboratory research, especially in case large-scale studies. Upon that, it is worth noting that positive PCR results may account for detecting solely certain RNA-related fragments present in any sample, rather than a viable virus. It was noted that PCR in comparison to CT analysis demonstrates higher specificity, but does not allow to distinguish pneumonia caused by SARS-CoV-2 from pneumonia caused by other etiological agents (up to 25% false positive results). However, the diagnostic CT sensitivity was 97.2% that exceeds such parameter for PCR by 10–15%. It was concluded that the approach combining use of both PCR and CT by taking into account their own features as well as factors affecting the accuracy of the data obtained, allows us to correctly interpret the diagnostical results.

Key words: COVID-19, virus SARS-CoV-2, diagnostic sensitivity, analytical sensitivity, RT-PCR, computer tomography.

Введение

Своевременная и качественная диагностика — один из ключевых факторов в борьбе с COVID-19. Сегодня метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) является своего рода «золотым стандартом» при диагностике вирусных и ряда других инфекций. Поэтому вполне очевидно, что именно ПЦР стала основой лабораторного диагноза при COVID-19.

Значительно реже для диагностики COVID-19 применяли другой молекулярно-генетический тест — петлевою изотермическую амплификацию (LAMP). Аналитическая чувствительность метода LAMP при диагностике новой коронавирусной инфекции определена как ~ 10 г.-э./мл [18], диагностическая чувствительность метода, описанная в публикациях специалистов из Китая, составляла в среднем 98%, специфичность — 99% [14, 43, 44]. К преимуществам LAMP относят изотермичность реакции, быстроту постановки, возможность работы с нативным образцом и визуального учета результатов. В то же время сложности эксплуатации наборов, возникновение неспецифичной флуоресценции, проблемы с созданием мультиплексных вариантов — причины, сдерживающие внедрение метода, пока так и не получившего широкого распространения.

Многие страны, в том числе Китай, США, в начале вспышки COVID-19 сталкивались с проблемой точности диагностики [4].

О диагностической точности применяемых тест-систем (методов) судят, в первую очередь, на основании оценки их чувствительности и специфичности.

Принятая для тест-систем аналитическая чувствительность метода ОТ-ПЦР составляет

порядка 1×10^3 г.-э./мл. Широко используемый в Российской Федерации диагностический набор производства ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора («Вектор-ПЦРв-2019-nCoV-RG») детектирует 1×10^5 копий/мл (согласно инструкции по применению набора «Вектор-ПЦРв-2019-nCoV-RG», [1]), наборы «АмплиСенс® Cov-Bat-FL» (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора), «COVID-2019 Amp» (ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера) — 1×10^3 г.-э./мл (согласно инструкциям к набору реагентов). Повышение аналитической чувствительности может достигаться путем увеличения количества РНК-мишеней до двух и более.

На 1 ноября 2020 г. методом ПЦР в мире проведено более 750 млн исследований по выявлению вируса SARS-CoV-2 методом ПЦР, при этом диагностическая чувствительность существующих тест-систем составляла, по данным различных авторов, 60–98% [2, 5, 25, 42].

На точность диагностики оказывает влияние целый ряд факторов. Причиной ложноотрицательных результатов молекулярных тестов могут быть недостаточное количество генетического материала вируса в пробе, сроки и погрешности при отборе биологических образцов.

Также существует возможность получения при постановке ПЦР ложноположительных ответов. Несмотря на уменьшение рисков ДНК (РНК)-контаминации при выполнении ПЦР в реальном времени, по сравнению с электрофорезным форматом учета результатов, эта проблема сохраняет свою значимость и требует высокого уровня организации лабораторных исследований, особенно при их значительных объемах. При этом следует иметь в виду, что положительные ответы ПЦР не означают при-

сутствие в образце живого вируса, так как метод выявляет только фрагменты РНК — маркеры SARS-CoV-2.

Вопросы точности лабораторного исследования неразрывно связаны с особенностями выполнения преаналитического и аналитического этапов диагностики. Можно выделить следующие факторы, во многом определяющие точность диагностического анализа, которые необходимо учитывать при планировании и выполнении преаналитического этапа работ.

1. Исследуемая группа (выборка) и сроки забора материала. В зависимости от времени, прошедшего после начала заболевания, и клинических проявлений (тяжести течения) вероятность нахождения вируса в исследуемых биологических образцах может меняться [30]. Это напрямую влияет на точность лабораторного диагноза. При оценке диагностической чувствительности тест-систем на новую коронавирусную инфекцию обычно выделяют следующие группы пациентов (больных COVID-19):

- больные с выраженными клиническими проявлениями (повышение температуры > 38°C, кашель (сухой или с небольшим количеством мокроты), одышка, миалгия, чувство «стеснения» в грудной клетке, полиорганная недостаточность, изменения на компьютерной томограмме легких значительные или субтотальные, развитие острого респираторного дистресс-синдрома);
- больные с незначительными клиническими проявлениями (повышение температуры до 38°C, боль в горле, насморк, отсутствие обоняния и вкуса, одышка, утомляемость, признаки конъюнктивита, изменения на компьютерной томограмме легких — типичные для вирусного поражения, объем поражения минимальный или средний) [3];
- пациенты с бессимптомным течением.

В течение 5–6 дней от начала появления симптомов наиболее высокая вирусная нагрузка определяется в верхних дыхательных путях и менее высокая — в нижних [31, 49]. На второй неделе болезни отмечается увеличение частоты детекции вирусной РНК в бронхо-легочном материале [36].

Представляет интерес вопрос возможности детекции РНК вируса в инкубационный период, который составляет от 1 до 14 дней, в среднем — 5 дней [37]. Установлено, что РНК вируса SARS-CoV-2 выявляется у пациентов за 1–3 дня до появления симптомов [10, 15, 24, 28, 31, 34, 36, 40, 46, 48, 49]. Приводятся данные о том, что высокая концентрация вируса SARS-CoV-2 в верхних дыхательных путях в этот период и в начале появления симптомов (5 дней) сочетается с наивысшим риском передачи инфекции [28, 48]. Также имеются результаты наблюдений, свидетельствующие, что

вирусная нагрузка в верхних дыхательных путях может быть одинаковой как у людей с клинически выраженным заболеванием, так и у лиц с бессимптомным течением болезни [49].

Приводятся данные, что при взятии материала у больных группы наблюдения в первый день проявления симптомов положительный ответ имел место с частотой в среднем — 94%, к 10 дню — 67% [38].

Сведения о диагностической чувствительности ПЦР в различные сроки после появления симптомов заболевания приведены в табл. 1. У некоторых пациентов вирусная РНК может определяться на протяжении всего нескольких дней, тогда как у других лиц она определяется в течение нескольких недель и, возможно, месяцев [9, 17, 22, 47]. Тяжелые больные остаются ПЦР-позитивными дольше, чем пациенты с легким течением заболевания [6, 30].

2. Исследуемый биоматериал. Установлено, что клинический биоматериал из нижних дыхательных путей (мокрота, эндотрахеальный аспират, бронхоальвеолярный лаваж) имеет больший процент выявления (детекции) РНК SARS-CoV-2, чем образцы из верхних дыхательных путей (ротоглотки и носоглотки) [33].

Частота выявления РНК SARS-CoV-2 на первой неделе заболевания в мазках из носоглотки составляла 63%, из ротоглотки — 32%, из бронхоальвеолярного лаважа — 93% [33], из мокроты — 95% и из слюны — 95% [6]. Представляют

Таблица 1. Диагностическая чувствительность метода ПЦР при исследовании материала в различные сроки болезни

Table 1. Diagnostic sensitivity of the PCR method while examining biological samples at various time points of the disease

Диагностическая чувствительность, % Diagnostic sensitivity, %	Сроки заболевания Disease stage	Ссылка на источник Link to publication
> 90%	В течение 1–3 дней после появления симптомов и до 5-го дня болезни Within 1–3 days after the onset of symptoms and up to the 5 th day of the disease	[6, 30]
до 80% up to 80%	На 6-й день On day 6	[6]
до 70–71% up to 70–71%	На 9–11 дни On day 9–11	[30]
< 50%	На 14-й день On day 14	[6]
< 30%	На 21 день On day 21	[30]

интерес данные об эффективности исследования методом ПЦР воды после полоскания ротовой полости в течение 10 с [29].

Низкий показатель обнаружения РНК SARS-CoV-2 имеет место при исследовании буккальных соскобов, мочи, крови и фекалий [16]. Отмечено, что детекция с помощью ПЦР вируса в кале не является специфическим признаком острого периода инфицирования. Генетический материал вируса может сохраняться в фекалиях до 1 месяца [6].

Показано, что чувствительность ПЦР при исследовании образцов из верхних дыхательных путей при первичном тестировании составила 82,2%, а после двух последовательных тестов — 90,6% [39].

Таким образом, очевидна важность учета вида исследуемого материала и сроков его забора для понимания точности ПЦР-анализа при обследовании на COVID-19.

3. *Порядок отбора и хранение проб* включает соблюдение правил преаналитического этапа

Таблица 2. Сравнительная характеристика инструментального (КТ) и лабораторного (ПЦР) методов диагностики COVID-19

Table 2. Comparative characteristics of instrumental (CT) and laboratory diagnostic (PCR) methods of COVID-19

Показатели Parameters	Лабораторный метод исследования (ПЦР) Laboratory diagnostic method (PCR)	Инструментальный метод исследования (компьютерная томография легких) Instrumental examination method (lung computed tomography)
Диагностическая чувствительность Diagnostic sensitivity	82,2–90,6% [39] 83,3% [26]	96% [41] 97% [4] 97,2% [26] 98% [13]
Диагностическая специфичность Diagnostic specificity	> 99% [27] 99,9–100% [39]	Частота ложноположительных ответов — 25% [4] Rate of false positive results — 25% [4]
Сроки заболевания и максимальная чувствительность метода Disease stage and the maximum sensitivity of method	Через 5–6 дней от начала появления симптомов [31, 49] 5–6 days after the onset of symptoms [31, 49]	2–4 день болезни, достигая максимума на 9–13 день [19, 23, 44] 2–4 days of the disease peaking on day 9–13 [19, 23, 44]
Недостаток метода Shortcoming of method	1. Невозможно отличить «жизнеспособный» вирус от фрагмента его РНК (возможность ложноположительного результата). 2. Время выполнения — 4–5 ч, при массовых обследованиях — до 12 ч. 1. Inability to distinguish a “viable” virus from a fragment of its own RNA (probability of false positive result). 2. Execution time — 4–5 hours, for mass examinations — up to 12 hours.	1. Невозможно отличить пневмонию, вызванную SARS-CoV-2, от пневмоний другой природы (низкая специфичность). 2. Ограничен в доступе ввиду необеспеченности КТ учреждений здравоохранения. 3. Противопоказан беременным, лицам с рядом заболеваний. 4. Развитие аллергической реакции на контрастное вещество. 5. Воздействие радиоактивного облучения. 1. Inability to distinguish between SARS-CoV-2 pneumonia and other types of pneumonia (low specificity). 2. Limited access due to the lack of CT equipment in health care facilities. 3. Contraindicated in pregnant women, persons with certain acute and chronic diseases. 4. Development of allergic reaction against contrast agent. 5. Exposure to radioactive irradiation.
Достоинства метода Advantages of the method	1. Метод высокоспецифичен, нацелен на выявление конкретного патогена. 2. Возможность массового тестирования, доступность. 3. Себестоимость исследования ниже в сравнении с КТ. 1. The method is highly specific, aimed at identifying specific pathogenic agents. 2. Opportunity of mass testing, availability. 3. The cost of the study is lower compared with CT.	1. Быстрый и легко выполнимый метод исследования. 1. Fast and easy to do examination method.

исследований — взятия клинического материала (мазки из носоглотки и ротоглотки), условий хранения и транспортировки. Основные негативные факторы — недостаточное количество биологического материала на зонде, высыхание зондов (тампонов) после забора пробы, длительное хранение при положительных температурах.

Аналитический этап при выполнении ПЦР (методов амплификации нуклеиновых кислот) во многом определяется «эффективностью» праймеров и зондов («запас прочности» тест-системы). За рубежом для детекции используют различные специфичные для SARS-CoV-2 участки генома вируса: N, E, S, RdRp, ORF (1AB) RdRp/Hel [8, 11, 12, 20, 30]. В Российской Федерации к 3 сентября 2020 г. было зарегистрировано 34 препарата, выявляющих N, E, S, ORF1ab, ORF8 и другие фрагменты РНК вируса.

Заслуживает внимания опыт применения для снижения частоты сомнительных результатов мультилокусных (на две и более мишени) ПЦР-тест-систем. Например, CDC (США) предложен диагностический набор «2019-nCoV» с праймерами-зондами для двух областей гена нуклеокапсида N, а также гена РНКазы Р [7]. В рекомендациях ВОЗ приводится другой набор праймеров: фрагмент гена РНК-зависимой РНК-полимеразы (RdRp) и гена оболочки (E). При этом было показано, что обе тест-системы имеют одинаковую высокую чувствительность и специфичность [11, 12, 42]. Оценивая аналитическую чувствительность ПЦР-тест-систем, следует учитывать влияние дизайна праймеров и зондов на эффективность специфической амплификации.

Сравнительная точность ПЦР-анализа и компьютерной томографии (КТ) при диагностике COVID-19. Важный вопрос — сравни-

тельная точность двух основных методов диагностики COVID-19: ОТ-ПЦР и КТ. Текущие исследования в Китае показывают, что КТ — более чувствительный метод диагностического тестирования новой коронавирусной инфекции, позволяющий установить точный диагноз быстрее в среднем на 3 дня [23, 44]. Однако КТ не дает возможности отличить пневмонию, вызванную SARS-CoV-2, от других вирусных пневмоний, а ложноотрицательные результаты составляют более 12% [4]. Также данные КТ не всегда коррелируют с тяжестью заболевания.

В Китае провели ретроспективное исследование для оценки диагностической точности применяемых методов, в которое включили всех пациентов с подозрением на пневмонию, вызванную COVID-19. В первые дни болезни им проводили КТ и ПЦР. Чувствительность КТ составила 97,2%, тогда как чувствительность ПЦР в этот период составила 83,3% [26].

Национальная комиссия здравоохранения Китая пересмотрела диагностические критерии в апреле 2020 г., согласно которым клинический диагноз COVID-19 устанавливается по наличию пневмонии на КТ грудной клетки, независимо от результатов ОТ-ПЦР.

Безусловно, молекулярные методы более специфичны, так как нацелены на идентификацию конкретного патогена. Сравнительный анализ показателей диагностической точности этих двух методов представлен в табл. 2. Оптимально для постановки диагноза COVID-19 проведение и КТ, и лабораторного теста (ПЦР). На практике имеют место случаи несовпадения положительных результатов этих методов [21]. В табл. 3 приведены примерные алгоритмы действий при возникновении таких ситуаций.

Таблица 3. Алгоритм действий при отличающихся результатах ПЦР и КТ при диагностике COVID-19 [3, 4, 19, 26, 32, 35]

Table 3. Algorithm of operating procedures in case of nonoverlapping PCR and CT data during diagnosis of COVID-19 [3, 4, 19, 26, 32, 35]

Результаты диагностики/Diagnostics results	
ПЦР (-) PCR (-)	КТ (+) CT (+)
При наличии эпидситуации пациентов изолируют. ПЦР должна быть проведена повторно в связи с тем, что положительные результаты КТ могут быть готовы в среднем на 3 дня раньше, чем ПЦР. In case of an epidemiological situation patients should be quarantined. RT-PCR should be repeated because CT positive results may occur mean 3 days earlier than RT-PCR data.	
ПЦР (+) PCR (+)	КТ (+) CT (+)
Клинически и лабораторно подтвержденный диагноз. Принимается весь комплекс противозидемических и лечебных мероприятий. Clinically and laboratory confirmed diagnosis. Entire set of anti-epidemic and therapeutic measures is taken into consideration.	
ПЦР (+) PCR (+)	КТ (-) CT (-)
Положительный диагноз при наличии клинической картины и соответствующей эпидситуации (эпиданамнеза). Повторная КТ через 6 дней. Positive diagnosis in the presence of clinical picture and appropriate epidemiological situation (epidemiological anamnesis). Repeated CT scan in 6 days.	

Заключение

В настоящее время основным методом лабораторной диагностики новой коронавирусной инфекции является молекулярно-генетический тест — ПЦР, позволяющая с высокой чувствительностью детектировать нуклеиновые кислоты вируса в любом материале. Как в случае с другими методами прямого обнаружения маркеров патогенного микроорганизма (вируса), при ПЦР-анализе важное значение имеет вероятность нахождения возбудителя инфекции в исследуемом материале. Именно этот фактор следует учитывать при планировании обследований и интерпретации получаемых с помощью ПЦР результатов.

Данные научных публикаций позволяют достаточно полно охарактеризовать показатели диагностической точности ПЦР-анализа при выявлении вируса SARS-CoV-2 и факторы, оказывающие на них влияние. Это сроки забора материала, с максимальной чувствительностью теста на 5–6 день после появления первых симптомов, тяжесть течения болезни, коррелирующая с продолжительностью детекции маркеров вируса, вид исследуемого материала — большая вероятность нахождения вируса в бронхоальвеолярном лаваже и мокроте (при отделении), по сравнению с материалом из носоглотки и ротоглотки, и низкая выявляемость в крови и моче. При этом даже по самым оптимистичным данным диагностическая чувствительность ПЦР не превышает 90%.

На сегодняшний день алгоритм диагностики новой коронавирусной инфекции включает инструментальный (радиологический) и лабораторный методы исследования. С клинической точки зрения результаты КТ, в сочетании с соответствующим эпидемиологическим анамнезом, могут быть использованы в качестве первого и непосредственного ориентира для врачей с целью начала лечения и принятия необходимых противоэпидемических мер, в то время как ПЦР служит инструментом подтверждения, ее результаты могут быть использованы позже для принятия решения о последующих действиях (изоляция, лечение). Но в то же время необходимо отметить, что здравоохранение многих стран столкнулось с нехваткой компьютерных томографов и квалифицированных специалистов, что делает данный метод недоступным для полномасштабных исследований, в отличие от лабораторного молекулярно-генетического теста. ПЦР-анализ незаменим для обследований контактных лиц, мониторинга заболеваемости.

Таким образом, именно комплексный подход с использованием ПЦР и КТ, с учетом факторов, влияющих на точность диагностики, позволяет обеспечить получение достоверных результатов, правильно интерпретировать их, что необходимо как для постановки верного диагноза конкретному больному, так и для получения объективных данных о заболеваемости населения, своевременного принятия решений о проведении необходимых противоэпидемических и профилактических мероприятий.

Список литературы/References

1. Бухарова О., Рузанова Н. Найти и обезвредить. Как можно пройти диагностику на коронавирус / Российская газета. 2020. 21 февраля (№ 8092). [Bukharova O., Ruzanova N. Find and disarm. How you can be diagnosed with coronavirus. *Rossiyskaya Gazeta*. 2020. 21 February (no. 8092). (In Russ.)] URL: <https://rg.ru/2020/02/20/kak-mozhno-projiti-diagnostiku-na-koronavirus.html> (20.02.2020)
2. Московские врачи предложили включить больницы для лечения коронавируса и пневмонии в единую систему / mosgorzdrav.ru. 2020. 9 апреля. [Moscow doctors have proposed to include hospitals for the treatment of coronavirus and pneumonia in a single system. *mosgorzdrav.ru*, 2020, 9 April. (In Russ.)] URL: <https://mosgorzdrav.ru/ru-RU/news/default/card/3748.html> (09.04.2020)
3. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19): временные методические рекомендации. Версия 9 (26.10.2020). Минздрав РФ, 2020. 236 с. [Prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection (COVID-19): temporary guidelines. Version 9 (26.10.2020). *Ministry of Health of the Russian Federation*, 2020. 236 p. (In Russ.)]
4. Ai T., Zhenlu Y., Hongyan H., Chenao Z., Chong C., Wenzhi L., Qian T., Ziyong S., Liming X. Correlation of chest CT and RT-PCR testing for coronavirus disease 2019 (COVID-19) in China: a report of 1014 cases. *J. Radiology*, 2020, vol. 296, pp. 32–40. doi: 10.1148/radiol.2020200642
5. Alcoba-Florez J., Gil-Campesino H., Garcia-Martinez de Artola D., Gonzalez-Montelongo R., Valenzuela-Fernandez A., Ciuffreda L., Flores C. Sensitivity of different RT-qPCR solutions for SARS-CoV-2 detection. *Int. J. Infect. Dis.*, 2020, vol. 99, pp. 190–192. doi: 10.1101/2020.06.23.20137455
6. Bergant M., de Marco A. Diagnostics and monitoring of COVID-19 infection — current understanding. *Preprints*, 2020: 2020050316. doi: 10.20944/preprints202005.0316.v1
7. CDC. 2019–Novel Coronavirus (2019-nCoV) Real-Time RT-PCR diagnostic panel: instructions for use. URL: <https://www.fda.gov/media/134922/download> (12.01.2020)
8. Chan J.F., Yip C.C., To K.K., Tang T.H., Wong S.C., Leung K.H., Fung A.Y., Ng A.C., Zou Z., Tsoi H.W., Choi G.K., Tam A.R., Cheng V.C., Chan K.H., Tsang O.T., Yuen K.Y. Improved molecular diagnosis of COVID-19 by the novel, highly sensitive and specific COVID-19-RdRp/Hel real-time reverse transcription-polymerase chain reaction assay validated in vitro and with clinical specimens. *J. Clin. Microbiol.*, 2020, vol. 58, no. 5: e00310–20. doi: 10.1128/JCM.00310–20

9. Chen Y., Liangjun C., Qiaoling D., Guqin Z., Kaisong W., Lan N., Yibin Y., Bing L., Wang W., Chaojie W., Jiong Y., Guangming Y., Cheng Z. The presence of SARS-CoV-2 RNA in the feces of COVID-19 patients. *J. Med Virol.*, 2020, vol. 92, no. 7, pp. 833–840. doi: 10.1002/jmv.25825
10. Cheng H.Y., Jian S.W., Liu D.P., Ng T.C., Huang W.T., Lin H.H.; Taiwan COVID-19 Outbreak Investigation Team. Contact tracing assessment of COVID-19 transmission dynamics in taiwan and risk at different exposure periods before and after symptom onset. *JAMA Intern. Med.*, 2020, vol. 180, no. 9, pp. 1156–1163. doi: 10.1001/jamainternmed.2020.2020
11. Cheng M.P., Papenburg J., Desjardins M., Kanjilal S., Quach C., Libman M., Dittrich S., Yansouni C.P. Diagnostic testing for severe acute respiratory syndrome-related coronavirus-2: a narrative review. *Ann. Intern. Med.*, 2020, vol. 172, no. 11, pp. 726–734. doi: 10.7326/M20-1301
12. Corman V.M., Landt O., Kaiser M., Molenkamp R., Meijer A., Chu D.K., Bleicker T., Brünink S., Schneider J., Schmidt M.L., Mulders D.G., Haagmans B.L., van der Veer B., van den Brink S., Wijsman L., Goderski G., Romette J.L., Ellis J., Zambon M., Peiris M., Goossens H., Reusken C., Koopmans M.P., Drosten C. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill.*, 2020, vol. 25, no. 3: 2000045. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045
13. Fang Y., Zhang H., Xie J., Lin M., Ying L., Pang P., Ji W. Sensitivity of chest CT for COVID-19: comparison to RT-PCR. *Radiology*, 2020, vol. 296, no. 2, pp. 115–117. doi: 10.1148/radiol.2020200432
14. Guan W.J., Ni Z.Y., Hu Y., Liang W.H., Ou C.Q., He J.X., Liu L., Shan H., Lei C.L., Hui D.S.C., Du B., Li L.J., Zeng G., Yuen K.Y., Chen R.C., Tang C.L., Wang T., Chen P.Y., Xiang J., Li S.Y., Wang J.L., Liang Z.J., Peng Y.X., Wei L., Liu Y., Hu Y.H., Peng P., Wang J.M., Liu J.Y., Chen Z., Li G., Zheng Z.J., Qiu S.Q., Luo J., Ye C.J., Zhu S.Y., Zhong N.S.; China Medical Treatment Expert Group for COVID-19. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *Engl. J. Med.*, 2020, vol. 382, no. 18, pp. 1708–1720. doi: 10.1056/NEJMoa2002032
15. He X., Lau E.H.Y., Wu P., Deng X., Wang J., Hao X., Lau Y.C., Wong J.Y., Guan Y., Tan X., Mo X., Chen Y., Liao B., Chen W., Hu F., Zhang M., Wu Y., Zhao L., Zhang F., Cowling B.J., Li F., Leung G.M. Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nat Med.*, 2020, vol. 26, no. 5, pp. 672–675. doi: 10.1038/s41591-020-0869-5
16. Hu E. COVID-19 testing: challenges, limitations and suggestions for improvement. *Preprints 2020: 2020040155*. doi: 10.20944/preprints202004.0155.v1
17. Hu Z., Song C., Xu C., Jin G., Chen Y., Xu X., Ma H., Chen W., Lin Y., Zheng Y., Wang J., Hu Z., Yi Y., Shen H. Clinical characteristics of 24 asymptomatic infections with COVID-19 screened among close contacts in Nanjing, China. *Sci. China Life Sci.*, 2020, vol. 63, no. 5, pp. 706–711. doi: 10.1007/s11427-020-1661-4
18. James A.S., Alawneh J.I. COVID-19 infection diagnosis: potential impact of isothermal amplification technology to reduce community transmission of SARS-CoV-2. *Diagnostics (Basel)*, 2020, vol. 10, no. 6: 399. doi: 10.3390/diagnostics10060399
19. Kanne J.P., Little B.P., Chung J.H., Elicker B.M., Ketai L.H. Essentials for radiologists on COVID-19: an update — radiology scientific expert panel. *Radiology*, 2020, vol. 296, no. 2, pp. 113–114. doi: 10.1148/radiol.2020200527
20. Kim S., Kim D., Lee B. Insufficient sensitivity of RNA dependent RNA polymerase gene of SARS-CoV-2 viral genome as confirmatory test using Korean COVID-19 cases. *Preprints*, 2020: 2020020424. doi: 10.20944/preprints202002.0424.v1
21. Li D., Wang D., Dong J., Wang N., Huang H., Xu H., Xia C. False-negative results of real-time reverse-transcriptase polymerase chain reaction for Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2: role of deep-learning-based CT diagnosis and sights from two cases. *Korean J. Radiol.*, 2020, vol. 21, no. 4, pp. 505–508. doi: 10.3348/kjr.2020.0146
22. Li N., Wang X., Lv T. Prolonged SARS-CoV-2 RNA shedding: not a rare phenomenon. *J. Med. Virol.*, 2020, vol. 92, no. 11, pp. 2286–2287. doi: 10.1002/jmv.25952
23. Li Y., Xia L. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): role of chest CT in diagnosis and management. *Am. J. Roentgenol.*, 2020, vol. 214, no. 6, pp. 1280–1286. doi: 10.2214/AJR.20.22954
24. Liu W.D., Chang S.Y., Wang J.T., Tsai M.J., Hung C.C., Hsu C.L., Chang S.C. Prolonged virus shedding even after seroconversion in a patient with COVID-19. *J. Infect.*, 2020, vol. 81, no. 2, pp. 318–356. doi: 10.1016/j.jinf.2020.03.063
25. Loeffelholz M.J., Tang Y.W. Laboratory diagnosis of emerging human coronavirus infections — the state of the art. *Emerg. Microbes Infect.*, 2020, vol. 9, no. 1, pp. 747–756. doi: 10.1080/22221751.2020.1745095
26. Long C., Xuc H., Shen Q., Zhang X., Fan B., Wang C., Zeng B., Li Z., Li X., Li H. Diagnosis of the Coronavirus disease (COVID-19): rRT-PCR or CT? *Eur. J. Radiol.*, 2020, vol. 126: 108961. doi: 10.1016/j.ejrad.2020.108961
27. Lu X., Wang L., Sakthivel S.K., Whitaker B., Murray J., Kamili S., Lynch B., Malapati L., Burke S.A., Harcourt J., Tamin A., Thornburg N.J., Villanueva J.M., Lindstrom S. US CDC real-time reverse transcription PCR panel for detection of Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. *J. Emerg. Infect. Dis.*, 2020, vol. 26, no. 8, pp. 1654–1665. doi: 10.3201/eid2608.201246
28. Lu Y., Deng W., Liu M., He Y., Huang L., Lv M., Li J., Du H. Symptomatic Infection is associated with prolonged duration of viral shedding in mild coronavirus disease 2019: a retrospective study of 110 children in Wuhan. *Pediatric Infect. Dis. J.*, 2020, vol. 39, no. 7, p. e95-e99. doi: 10.1097/INF.0000000000002729
29. Maricic T., Nickel O., Aximu-Petri A., Essel E., Gansauge M., Kanis P., Macak D., Riesenberger S., Bokelmann L., Zeberg H., Meyer M., Borte S., Paabo S. A direct RT-qPCR approach to test large numbers of individuals for SARS-CoV-2. *medRxiv preprint*, 2020, June 26. doi: 10.1101/2020.06.24.20139501
30. Miller T.E., Garcia Beltran W.F., Bard A.Z., Gogakos T., Anahtar M.N., Astudillo M.G., Yang D., Thierauf J., Fisch A.S., Mahowald G.K., Fitzpatrick M.J., Nardi V., Feldman J., Hauser B.M., Caradonna T.M., Marble H.D., Ritterhouse L.L., Turbett S.E., Batten J., Georgantas N.Z., Alter G., Schmidt A.G., Harris J.B., Gelfand J.A., Poznansky M.C., Bernstein B.E., Louis D.N., Dighe A., Charles R.C., Ryan E.T., Branda J.A., Pierce V.M., Murali M.R., Iafate A.J., Rosenberg E.S., Lennerz J.K. Clinical sensitivity and interpretation of PCR and serological 1 COVID-19 diagnostics for patients presenting to the hospital. *FASEB J.*, 2020, vol. 34, no. 10, pp. 13877–13884. doi: 10.1096/fj.202001700RR
31. Pan Y., Zhang D., Yang P., Poon L.M., Wang Q. Viral load of SARS-CoV-2 in clinical samples. *Lancet Infect. Dis.*, 2020, vol. 20, no. 4, pp. 411–412. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30113-4
32. Salehi S., Abedi A., Balakrishnan S., Gholamrezanezhad A. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): a systematic review of imaging findings in 919 patients. *Am. J. Roentgenol.*, 2020, vol. 215, no. 1, pp. 87–93. doi: 10.2214/AJR.20.23034

33. Tahmasebi S., Khosh E., Esmailzadeh A. The outlook for diagnostic purposes of the 2019-novel coronavirus disease. *J. Cell Physiol.*, 2020, vol. 235, no. 12, pp. 9211–9229. doi: 10.1002/jcp.29804
34. van Kampen J.J.A., van de Vijver D.A.M.C., Fraaij P.L.A., Haagmans B.L., Lamers M.M., Okba N., van den Akker J.P.C., Endeman H., Gommers D.A.M.P.J., Cornelissen J.J., Hoek R.A.S., van der Eerden M.M., Hesselink D.A., Metselaar H.J., Verbon A., de Steenwinkel J.E.M., Aron G.I., van Gorp E.C.M., van Boheemen S., Voermans J.C., Boucher C.A.B., Molenkamp R., Koopmans M.P.G., Geurtsvankessel C., van der Eijk A.A. Duration and key determinants of infectious virus shedding in hospitalized patients with coronavirus disease-2019 (COVID-19). *Nat. Commun.*, 2021, vol. 12, no. 1: 267. doi: 10.1038/s41467-020-20568-4
35. Wang M., Wu Q., Xu W., Qiao B., Wang J., Zheng H., Jiang S., Mei J., Wu Z., Deng Y., Zhou F., Wu W., Zhang Y., Zhihua L., Huang J., Guo X., Feng L., Xia Z., Li D., Xu Z., Liu T., Zhang P., Tong Y., Li Y. Clinical diagnosis of 8274 samples with 2019-novel coronavirus in Wuhan. *medRxiv preprint*, 2020, February 18. doi: 10.1101/2020.02.12.20022327
36. Weiss A., Jellingsoe M., Sommer M.O.A. Spatial and temporal dynamics of SARS-CoV-2 in COVID-19 patients: a systematic review and meta-analysis. *EBioMedicine*, 2020, vol. 58: 102916. doi: 10.1016/j.ebiom.2020.102916
37. WHO. Advice on the use of masks in the context of COVID-19. 2020. URL: [https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/temp/who-2019-ncov-ipc-masks-2020-4-eng.pdf?sfvrsn=20ec1cbf_2\(05.06.2020\)](https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/temp/who-2019-ncov-ipc-masks-2020-4-eng.pdf?sfvrsn=20ec1cbf_2(05.06.2020))
38. Wikramaratna P.S., Paton R.S., Ghafari M., Lourenço J. Estimating the false-negative test probability of SARS-CoV-2 by RT-PCR. *Euro Surveill.*, 2020, vol. 25, no. 50: 2000568. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.50.2000568
39. Williams T.C., Wastnedge E., Allister G., Bhatia R., Cuschieri K., Kefala K., Fiona J.H., Johannessen I., Laurenson I.F., Shepherd J., Stewart A., Waters D., Wise H., Templeton K. Sensitivity of RT-PCR testing of upper respiratory tract samples for SARS-CoV-2 in hospitalised patients: a retrospective cohort study. *medRxiv preprint*, 2020, June 20. doi: 10.1101/2020.06.19.20135756
40. Wölfel R., Corman V.M., Guggemos W., Seilmaier M., Zange S., Müller M.A., Niemeyer D., Jones T.C., Vollmar P., Rothe C., Hoelscher M., Bleicker T., Brünink S., Schneider J., Ehmann R., Zwirgmaier K., Drosten C., Wendtner C. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*, 2020, vol. 581, no. 7809, pp. 465–469. doi: 10.1038/s41586-020-2196-x
41. Xie X., Zhong Z., Zhao W., Zheng C., Wang F., Liu J. Chest CT for typical coronavirus disease 2019 (COVID-19) pneumonia: relationship to negative RT-PCR testing. *J. Radiology*, 2020, vol. 296, no. 2, pp. 41–45. doi: 10.1148/radiol.2020200343
42. Yang H., Lan Y., Yao X., Lin S., Xie B. Evaluation on the diagnostic efficiency of different methods in detecting COVID-19. *medRxiv preprint*, 2020, June 26, doi: 10.1101/2020.06.25.20139931
43. Yang W., Dang X., Wang Q., Xu M., Zhao Q., Zhou Y., Zhao H., Wang L., Xu Y., Wang J., Han S., Wang M., Pei F., Wan Y. Rapid detection of SARS-CoV-2. Using reverse transcription RT-LAMP method. *medRxiv preprint*, 2020, March 03. doi: 10.1101/2020.03.02.20030130
44. Yang W., Yan F. Patients with RT-PCR confirmed COVID-19 and normal chest CT. *J. Radiology*, 2020, vol. 295, no. 2: E3. doi: 10.1148/radiol.2020200702
45. Young B.E., Sean-Wei X.O., Kalimuddin S., Low J.G., Tan S.Y., Loh J., Ng O.-T., Marimuthu K., Ang L.W., Mak T.M., Lau S.K., Anderson D.E., Chan K.S., Tan T.Y., Ng T.Y., Cui L., Zubaidah S., Kurupatham L., Chen M.I.-C., Chan M., Vasoo S., Wang L.F., Tan B.H., Tzer R. Lin P., Jian V., Lee M., Leo Y.-S., Lye D.C. Epidemiologic features and clinical course of patients infected with SARS-CoV-2 in Singapore. *JAMA*, 2020, vol. 323, no. 15, pp. 1488–1494. doi: 10.1001/jama.2020.3204
46. Yuan J., Kou S., Liang Y., Zeng J.F., Pan Y., Liu L. Polymerase chain reaction assays reverted to positive in 25 discharged patients with COVID-19. *Clin. Infect. Dis.*, 2020, vol. 71, no. 16, pp. 2230–2232. doi: 10.1093/cid/ciaa398
47. Zhou B., She J., Wang Y., Ma X. The duration of viral shedding of discharged patients with severe COVID-19. *Clin. Infect. Dis.*, 2020, vol. 71, no. 16, pp. 2240–2242. doi: 10.1093/cid/ciaa451
48. Zhou R., Li F., Chen F., Liu H., Zheng J., Lei C., Wu X. Viral dynamics in asymptomatic patients with COVID-19. *Int. J. Infect. Dis.*, 2020, vol. 96, pp. 288–290. doi: 10.1016/j.ijid.2020.05.030
49. Zou L., Ruan F., Huang M., Liang L., Huang H., Hong Z., Yu J., Kang M., Song Y., Xia J., Guo Q., Song T., He J., Yen H.L., Peiris M., Wu J. SARS-CoV-2 viral load in upper respiratory specimens of infected patients. *N. Engl. J. Med.*, 2020, vol. 382, no. 12, pp. 1177–1179. doi: 10.1056/NEJMc2001737

Авторы:

Куличенко А.Н., д.м.н., член-корреспондент РАН, профессор, директор ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, Ставрополь, Россия;

Саркисян Н.С., к.м.н., зав. отделом консультационно-профилактической работы, врач клинической лабораторной диагностики, ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, Ставрополь, Россия.

Authors:

Kulichenko A.N., PhD, MD (Medicine), RAS Corresponding Member, Professor, Director of the Stavropol Plague Control Research Institute, Stavropol, Russian Federation;

Sarkisyan N.S., PhD (Medicine), Head of the Consulting and Preventive Work, Doctor of Clinical Laboratory Diagnostics, Stavropol Plague Control Research Institute, Stavropol, Russian Federation.