



МОМЫНАЛИЕВ К.Т.



ИВАНОВ И.В.

К.Т. МОМЫНАЛИЕВ¹, д.б.н., доцент, эксперт,
dhoroshun@gmail.com

И.В. ИВАНОВ¹, к.м.н., генеральный директор,
ivi1976@bk.ru

О природе ложноотрицательных результатов при выявлении коронавируса SARS-CoV-2 методами амплификации нуклеиновых кислот

DOI: <https://doi.org/10.35576/2070-7940-2020-2-11-19>

¹ ФГБУ «Национальный институт качества» Росздравнадзора, 109074, Россия, г. Москва, Славянская пл., 4, стр. 1. Federal State Organization «National quality institute» Federal Service for Surveillance in Healthcare, 4, bld. 1, Slavyanskaya Square, Moscow, 109074.

Ключевые слова: COVID-19; SARS-CoV-2, полимеразная цепная реакция в реальном режиме времени с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР), ложноотрицательные результаты, диагностическая чувствительность, диагностическая специфичность

Для цитирования: Момыналиев К.Т., Иванов И.В. О природе ложноотрицательных результатов при выявлении коронавируса SARS-CoV-2 методами амплификации нуклеиновых кислот. – Вестник Росздравнадзора. – 2020. – № 2. – С. 11–19. DOI: <https://doi.org/10.35576/2070-7940-2020-2-11-19>

For citation: Momynaliev K.T., Ivanov I.V. The nature of false negative results in the detection of SARS-CoV-2 coronavirus by nucleic acid amplification methods. – Vestnik Roszdravnadzora. – 2020. – Vol. 2. – P. 11–19. DOI: <https://doi.org/10.35576/2070-7940-2020-2-11-19>

Momynaliev K.T., Ivanov I.V.

The nature of false negative results in the detection of SARS-CoV-2 coronavirus by nucleic acid amplification methods

The 2019 coronavirus disease (COVID-19), caused by the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), has become a global public health threat. An accurate diagnosis of coronavirus disease 2019 (COVID-19) is based on isolation of the virus or a positive result of the polymerase chain reaction (PCR) from sputum, nasal swab, or throat swab, but false negative results may occur. Here we review reasons of false negative test results when SARS-CoV-2 coronavirus is detected by RT-PCR. Among them are the pre-analytical errors (collection of samples, processing, transportation, storage and preparation for testing), the variability of predictive value of the test with time from exposure and symptom onset and the bioavailability SARS-CoV-2 in various types of clinical specimens.

Keywords: COVID-19; SARS-CoV-2, real-time reverse transcription PCR (RT-PCR), false negative results, diagnostic sensitivity, diagnostic specificity

Введение

В период развития пандемии коронавирусной инфекции на территории Российской Федерации важной задачей является проведение тестирования населения для раннего выявления больных с диагнозом COVID-19. Для решения данной задачи требуется достаточное количество тестов, способных обнаруживать вирус у пациентов. ФГБУ «Национальный институт качества» Росздравнадзора является экспертной организацией, которая проводит экспертизу качества, эффективности и безопасности медицинских изделий для целей их государственной регистрации по заданию Росздравнадзора. Оценка заявляемых тест-систем, их чувствительность и специфичность, перекрестная реактивность являются ключевыми характеристиками при рассмотрении представляемых документов. Изучение опыта других стран

Пандемия 2019 г., вызванная коронавирусом тяжелого острого респираторного синдрома-2 (SARS-CoV-2), стала глобальной угрозой общественному здравоохранению. Диагноз коронавирусной болезни 2019 (COVID-19) основан на выделении вируса или положительном результате полимеразной цепной реакции (ПЦР) из мокроты, мазка из носа или мазка из зева, но могут возникнуть ложноотрицательные результаты. В предлагаемом обзоре рассмотрены основные причины ложноотрицательных результатов теста, когда для обнаружения коронавируса SARS-CoV-2 используется ОТ-ПЦР. Среди основных причин – преаналитические ошибки (сбор образцов, обработка, транспортировка, хранение и подготовка к тестированию), изменчивость прогностической ценности теста с течением времени от начала появления симптомов, а также биодоступность SARS-CoV-2 в различных типах клинических образцов пациентов.

при работе с различными тест-системами – важная составляющая деятельности экспертов.

Цель данной статьи

Изучить причины ложноотрицательных результатов при применении тестов для выявления коронавируса SARS-CoV-2 методами амплификации нуклеиновых кислот.

Проблема ложноотрицательных тестов при ПЦР диагностике SARS-CoV-2

31 декабря 2019 г. появились сообщения о выявлении в городе Ухань в Китае случаев пневмонии неизвестного происхождения. 7 января 2020 г. было установлено, что возбудителем заболевания является новый коронавирус, который получил временное обозначение «2019-nCoV». 30 января 2020 г. Генеральный директор ВОЗ объявил, что вспышка инфекции нового коронавируса (2019-nCoV) представляет собой чрезвычайную ситуацию в области общественного здравоохранения, имеющую международное значение. 11 февраля 2020 г. ВОЗ присвоила официальное название инфекции, вызванной новым коронавирусом, – COVID-19 («Coronavirus disease 2019»). Международный комитет по таксономии вирусов 11 февраля 2020 г. присвоил официальное название возбудителю инфекции – SARS-CoV-2.

Для подтверждения клинического диагноза COVID-19 используется метод амплификации нуклеиновых кислот (Полимеразная цепная реакция в реальном режиме времени с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) или изотермическая амплификация с обратной транскрипцией (ОТ-ИА))¹. Тесты на основе амплификации нуклеиновых кислот, как правило, имеют высокую диагностическую специфичность и чувствительность² (более 95%). Это означает, что более 95% клинических образцов, содержащих SARS-CoV-2, будут выявлены методом амплификации нуклеиновых кислот и в 95 % случаях вирус не будет выявлен при его отсутствии и наличии других

возбудителей респираторных инфекций дыхательных путей.

Применение тестов на основе метода амплификации нуклеиновых кислот в Российской Федерации в последнее время резко увеличилось. Количество тестов на коронавирусную инфекцию, проведенных в России, превысило 1,5 млн, ежедневно выполняется от 80 до 90 тысяч тестов. Вместе с широким внедрением тестов в клиническую практику появляются сообщения о том, что реальная чувствительность метода ПЦР находится в пределах 60–80%, что у пациентов с отрицательными результатами ПЦР-теста выявляется клиническая картина COVID-19 [8]. Например, Feng H. и соавт. (2020) сообщили о пациенте, у которого диагноз COVID-19 не был подтвержден на основании четырех последовательных тестов ОТ-ПЦР-мазка из глотки, при этом компьютерная томография легких показала пятнистую непрозрачность матового стекла при поступлении, и которая быстро прогрессировала [5]. Только пятый тест ОТ-ПЦР на пятый день после поступления пациента, наконец, показал положительные результаты.

Помимо того, что ложноотрицательные результаты могут оттягивать своевременное лечение пациентов с коронавирусной инфекцией, существует угроза для общественного здравоохранения из-за распространения инфекции от пациентов с такими результатами исследования. Например, люди с ложноотрицательными результатами могут ослабить социальную дистанцию и другие меры, предназначенные для снижения передачи вируса другим, а клиницисты с таким результатом будут непреднамеренно передавать вирус пациентам и коллегам при осуществлении профессиональной деятельности.

В данном обзоре мы попытались разобраться в природе ложноотрицательных результатов ПЦР тестов в лабораторной

¹ Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» Минздрава России. Версия 5 (08.04.2020).

² Диагностическая чувствительность (diagnostic sensitivity) - способность методики диагностического исследования *in vitro* идентифицировать присутствие целевого маркера, сочетающегося с конкретной болезнью или состоянием. Диагностическая специфичность (diagnostic specificity) - способность методики диагностического исследования *in vitro* распознавать отсутствие целевого маркера конкретной болезни или состояния.

диагностике и оценить меры, которые позволят их снизить.

Преаналитические ошибки

В настоящее время имеются неопровержимые доказательства того, что преаналитическая фаза является основным источником ошибок в лабораторных исследованиях, когда они используются для диагностических или исследовательских целей [9, 11].

Безопасность и качество тестирования ОТ-ПЦР могут быть поставлены под угрозу из-за отсутствия или неправильной идентификации пациента и/или образца, сбора неуместных или неадекватных материалов (по качеству или объему), неправильных условий транспортировки и хранения образца (например, нестабильная температура, длительное время транспортировки), наличие интерферирующих веществ (например, высвобождение клеточных компонентов, которые могут помешать анализу из-за замерзания цельной крови, использование неподходящих добавок), а также рядом процедурных технологических проблем, возникающих во время подготовки образца, включая, среди прочего, ошибки пипетирования при ручной подготовке

образца или аликвотировании, перекрестное загрязнение образца (табл.). Основные специфические проблемы, которые могут повлиять на качество анализов ОТ-ПЦР, включают загрязнение образца (даже следовые количества внешней ДНК могут поставить под угрозу результаты теста) и тестирование, проводимое у пациентов, получающих антиретровирусную терапию, что может затем привести к ложноотрицательным результатам³.

Чувствительность тестов как один из источников ложноотрицательных результатов.

В настоящее время в Российской Федерации зарегистрирован ряд тестов на основе амплификации нуклеиновых кислот. Как правило, характеристики диагностической чувствительности (ДЧ) сообщаются в формате: ДЧ, определенная в клинических испытаниях (95% ДИ: нижняя граница – верхняя граница)⁴, например, 100% (95%: 95,6 – 100%). Ширина доверительного интервала зависит от количества биообразцов, которые были использованы в клинических испытаниях. Чем больше образцов, тем меньше доверительный интервал, и наоборот.

Таблица. Потенциальные преаналитические и аналитические ошибки в лабораторном диагнозе коронавирусной болезни 2019 (COVID-19) с использованием полимеразной цепной реакции в реальном времени с обратной транскрипцией [11]

Тип ошибок	Возможные причины
Преаналитические ошибки	<p>Общие ошибки:</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ отсутствие идентификации / неправильной идентификации образца ■ неадекватные процедуры сбора образцов (например, мазок), обработка, транспортировка и хранение ■ сбор неподходящего или неадекватного материала по качеству или объему ■ наличие интерферирующих веществ ■ ручные ошибки (пипетирование) <p>Специфические ошибки:</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ контаминация образца ■ тестирование пациентов, получающих антиретровирусную терапию
Аналитические ошибки	<ul style="list-style-type: none"> ■ тестирование проводится за пределами диагностического окна ■ активная вирусная рекомбинация ■ использование неадекватно валидированных тестов ■ отсутствие гармонизации праймеров и зондов ■ неисправность прибора ■ недостаточный или неадекватный материал ■ неспецифический отжиг ПЦР ■ неправильная интерпретация результатов

³ Процедура подготовки образцов, транспортировка и их хранение подробно описана в Методических рекомендациях МР 3.1.0169-20 Роспотребнадзора.

⁴ 95% ДИ – обычно интерпретируется как доверительный интервал (например, интервал значений), в пределах которого (нижняя граница – верхняя граница) с доверительной вероятностью 95% находится истинное среднее популяции (генеральное среднее).

Диагностическая чувствительность всех ПЦР-тестов, определенная в ходе проведения клинических испытаний, составляет 100%, что означает: все образцы, содержащие SARS-CoV-2, были выявлены этим ПЦР-тестом. Однако при экстраполяции этих результатов на популяцию чувствительность теста ожидаемо снижается и уже не достигает 100%, например, среднее значение может быть 95% при доверительной вероятности 95%.

Какие угрозы возникают для населения в целом, можно проиллюстрировать на примерах Испании и США, например, если чувствительность ПЦР-теста будет 95% [15].

Мэр Мадрида предположил, что 80% из 6,5 млн жителей Мадрида будут заражены COVID-19. Если бы было протестировано все население, из ожидаемых 5,2 миллиона инфицированных, 260 тыс. человек были бы ошибочно классифицированы как свободные от инфекции. Даже при менее распространенном или целевом тестировании среди случайных выборок количество ложноотрицательных тестов может быть огромным. Точно так же было подсчитано, что уровень распространения COVID-19 в Калифорнии может превысить 50% к середине мая 2020 г. С населением в 40 млн человек можно ожидать 1 млн ложноотрицательных результатов при всестороннем тестировании. Даже если бы был протестирован только 1% населения, можно ожидать 10 тыс. ложноотрицательных результатов. Если уровень заболеваемости COVID-19 среди 4 млн врачей, медсестер и других медицинских работников, оказывающих непосредственную помощь пациентам в Соединенных Штатах Америки, будет даже 10% (намного ниже большинства национальных прогнозов распространенности), можно ожидать более 20 тыс. ложноотрицательных результатов, если бы каждый врач проходил тест. Если бы чувствительность теста составляла только 70%, как указывалось в ранних отчетах, число ложноотрицательных результатов было бы более 100 тыс. [4]. Независимо от точности этих цифр, каждый из этих работников здравоохранения может быть источником распространения

заболевания, несмотря на кажущуюся уверенность в отрицательном результате теста COVID-19.

Следует отметить, что все зарегистрированные ПЦР тест-системы имеют ограничения – предел обнаружения (минимально обнаруживаемой концентрации) вируса в образце. Практически это означает, что если предел обнаружения ПЦР тест-системы составляет 1 000 копий SARS-CoV-2 на 1 мл образца, то все образцы с концентрацией менее 1 000 копий/мл будут пропущены этим тестом и результат тестирования будет отрицательным.

Еще одна причина ложноотрицательных результатов, которая недавно была обнаружена – это риск активной рекомбинации и мутаций, которые связаны с подверженной ошибкой РНК-зависимой РНК-полимеразой коронавирусов. Shen и соавторы, обнаружили значительный уровень вирусного разнообразия у некоторых инфицированных пациентов, в среднем 4 внутрииндивидуальных вирусных варианта, что свидетельствует о быстрой эволюции SARS-CoV-2 [13]. В другом исследовании Yi обнаружил пять различных гаплотипов SARS-CoV-2, что обычно отражает активную генетическую рекомбинацию [18]. Такая эволюция вируса не только объясняет гетерогенность, наблюдаемую при внутрииндивидуальном иммунном ответе, вирулентности, патогенности и трансмиссивности, но и может также поставить под угрозу точность определения ОТ-ПЦР.

Обнаружение SARS-CoV-2 в разных типах клинических образцов

Основным видом биоматериала для лабораторного исследования является материал, полученный при заборе мазка из носоглотки и/или ротоглотки. В качестве дополнительного материала для исследования могут использоваться мокрота (при наличии), промывные воды бронхов, полученные при фибробронхоскопии (бронхоальвеолярный лаваж), (эндо-)трахеальный, назофарингеальный аспират, биопсийный или аутопсийный материал легких, цельная кровь, сыворотка, плазма крови, фекалии.

Очевидно, важное значение в выявлении коронавируса SARS-CoV-2 имеет биораспределение SARS-CoV-2 в различных тканях пациентов с коронавирусной болезнью 2019 (COVID-19), то есть, необходимо понимать, какой и когда биоматериал надо тестировать у пациента при подозрении на инфекцию.

В работе Wang и соавт. были исследованы образцы от пациентов на основании клинических показаний [14]. Мазки из глотки были взяты у большинства пациентов через 1–3 дня после госпитализации. Образцы крови, мокроты, кала, мочи и отделяемого из носа собирались на протяжении всей болезни. Бронхоальвеолярный лаваж и биоматериал, полученный при фибробронхоскопии, были взяты у пациентов с тяжелым течением заболевания или после искусственной вентиляции легких. Пороговое значение цикла (Ct) менее 40 интерпретировалось как положительное на РНК SARS-CoV-2. Всего было исследовано 1 070 образцов от 205 пациентов с COVID-19, средний возраст 44 года (диапазон 5–67 лет), 68% мужчин. У большинства пациентов клиническими проявлениями была лихорадка, сухой кашель; у 19% пациентов было тяжелое течение заболевания.

В ходе проведенной работы были получены следующие результаты. В образцах жидкости бронхоальвеолярного лаважа было выявлено наибольшее количество положительных результатов (14 из 15; 93%), затем мокрота (72 из 104; 72%), мазки из носа (5 из 8; 63%), биоматериал, полученный при фибробронхоскопии (6 из 13; 46%), мазки из глотки (126 из 398; 32%), кал (44 из 153; 29%) и кровь (3 из 307; 1%). Ни один из 72 образцов мочи не дал положительных результатов. Средние пороговые значения цикла для всех типов образцов составляли более 30 ($<2,6 \times 10^4$ копий/мл), за исключением назальных мазков со средним пороговым значением цикла 24,3 ($1,4 \times 10^6$ копий/мл), что указывает на более высокие вирусные нагрузки.

Двадцать пациентов имели от 2 до 6 образцов, собранных одновременно. Вирусная

РНК была обнаружена в единичных образцах от 6 пациентов (респираторные образцы, фекалии или кровь), в то время как 7 пациентов выделяли образцы респираторного тракта вируса и в кале ($n = 5$) или крови ($n = 2$). Живой SARS-CoV-2 наблюдался в образце стула от 2 пациентов, у которых не было диареи.

В этом исследовании SARS-CoV-2 был обнаружен в образцах из нескольких мест пациентов с COVID-19, причем образцы из нижних дыхательных путей чаще всего давали положительный результат на вирус.

Вероятно, что тестирование образцов из нескольких мест может улучшить чувствительность и уменьшить число ложноотрицательных результатов теста.

Вариации ложноотрицательных результатов ПЦР-тестов SARS-CoV-2 по времени от начала инфицирования

Существует понятие «период окна», при котором тестирование с наибольшей вероятностью может давать ложноотрицательные результаты, например, если концентрация вируса пока ниже предела обнаружения ПЦР-теста. Если отрицательные тесты, выполненные внутри периода окна, рассматриваются как убедительное доказательство того, что образец не содержит коронавирус SARS-CoV-2, то может произойти предотвратимая передача.

Поэтому очень важно понимать, как прогностическая ценность теста изменяется со временем от инфицирования и появления симптомов, чтобы избежать ложноотрицательных тестов на ранних стадиях инфекции.

В работе Kucirka L. и соавт. была проведена оценка ложноотрицательных результатов по дням с момента заражения [6]. Авторами была рассчитана пост-тестовая вероятность инфекции исходя из предшествующей вероятности, основанной на частоте инфицирования в тесных домашних контактах с SARS-CoV-2 в Шэньчжэне (77/686, 11,2%) [3]. Авторы предполагали, что специфичность для RT-PCR составляет 100%.

В результате было показано, что за четыре дня инфекции до типичного времени проявления симптомов (день 5) вероятность ложноотрицательного теста у инфицированного человека падает со 100% в первый день (95% ДИ 69-100%) до 61% в четвертый день (95% ДИ 18-98%), хотя существует значительная неопределенность в этих цифрах.

В день появления симптомов медиана ложноотрицательных результатов составляла 39% (95% ДИ 16-77%) (рис. 1, верхняя панель). Затем снижалась до 26% (95% ДИ 18-34%) на восьмой день (через 3 дня после появления симптомов), а затем снова начала расти, с 27% (95% ДИ 20-34%) на девятый день до 61% (95% ДИ 54-67%) в двадцать первый день.

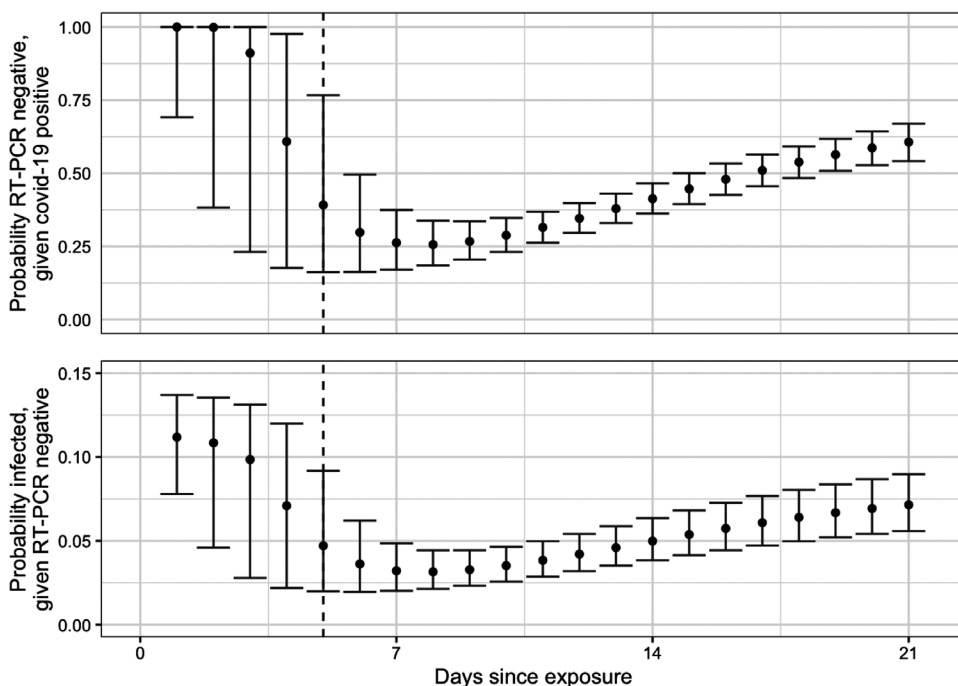
Таким образом, по мнению Kucirka L. и соавт., тесты, выполненные в первый день появления симптомов, являются более информативными.

Также очевидно, что количество вируса в тампоне, вероятно, будет варьировать

между пациентами, местом забора пробы (носом, горлом или мокротой) и временем по мере прогрессирования инфекции. С этой точки зрения вызывает интерес исследование Wikramaratna и соавт., в котором исследователи также попытались оценить вероятность ложноотрицательного результата в зависимости от количества дней между появлением симптомов и выполнением теста, и как это связано с местом, из которого взяты мазки [12].

В работе были использованы данные исследований, в которых сообщалось о результатах ПЦР-тестов пациентов больницы, которые дали положительный результат на COVID-19 хотя бы один раз [7, 16, 19]. Всего были получены данные о 426 тестах у 39 пациентов в 3 когортах. Однако только в двух исследованиях сообщалось о месте взятия мазка (из носа или горла) для каждого отдельного теста; поэтому анализ был ограничен этими данными, то есть 298 тестами от 30 пациентов

Рисунок 1. Вероятность 1) отрицательной ОТ-ПЦР среди пациентов, инфицированных SARS-CoV-2 (верхняя панель), и 2) инфицирования, если результаты ОТ-ПЦР отрицательные (нижняя панель), по дням с момента инфицирования. Адаптировано из [6]



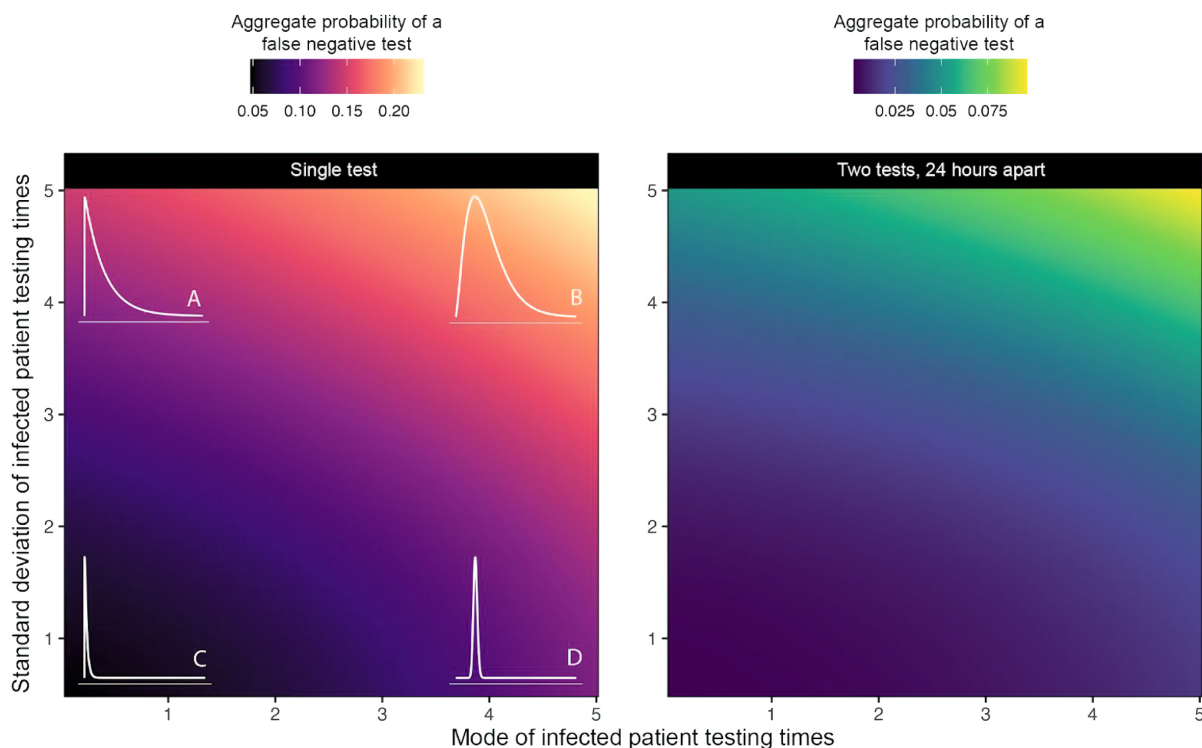
(150 мазков из носа и 148 из горла). Данные были проанализированы с использованием биномиально-распределенных обобщенных аддитивных смешанных моделей (GAMM) с пакетом mgcv в статистическом программном приложении R.

В ходе проведенной работы были получены следующие результаты. Мазки, взятые из горла сразу после появления симптомов, с вероятностью на 6,39% дадут положительный результат, чем мазок из носа. Вероятность положительного теста снижается с числом дней после появления симптомов; для назального мазка процентная вероятность положительного теста снижается с 94,39% (86,88, 97,73) при манифесте (0 день) до 67,15% (53,05, 78,85) в десятый день.

К 31 дню остается только 2,38% (0,60, 9,13) вероятность положительного результата (цифры для мазков из горла: 88% (75,18, 94,62), 47,11% (32,91, 61,64) и 1,05% (0,24, 4,44) для 0, 10 и 31 дня соответственно). Полученные данные сопоставимы с моделью, предложенной Kucirka L. и соавт.

Таким образом, вероятность ложноотрицательного результата теста зависит от количества дней с момента появления симптомов. Это означает, что простые отчеты о положительных и отрицательных результатах тестов среди лиц, которые проходят тестирование только один раз, будут недооценивать истинное количество положительных результатов в этой группе.

Рисунок 2. Поверхности, показывающие совокупную вероятность ложноотрицательных тестов (обозначенных цветом) в гамма-распределенных группах людей, тестируемых на COVID-19



Ось X показывает режим гамма-распределения, а ось Y - стандартное отклонение. Левая панель показывает частоту ошибок для одного теста, в то время как вторая панель показывает частоту ошибок для двух тестов с интервалом в 24 часа. Иллюстративные распределения изображены в соответствующих углах первой панели (они одинаковы во второй панели). Каждая точка на поверхности является результатом уникальной параметризации распределения, причем на вспомогательных участках A-D показаны иллюстративные примеры в четырех крайних точках. A дает сценарий, при котором большинство пациентов проходят тестирование на ранней стадии, но с «длинным хвостом» остальных пациентов, которые проходят длительное время для тестирования. B показывает сценарий, в котором пациенты в основном тестируются позже, с таким же длинным хвостом. Сценарии C и D представляют собой сценарии, в которых пациенты последовательно тестируются рано (C) или поздно (D) (с очень тонкими хвостами). Адаптировано из [12].

На *рисунке 2* показано, как изменение формы и скорости гаммы-распределения влияет на средний уровень ложноотрицательных результатов. Если инфицированные лица тестируются поздно, то ожидается, что уровень ложноотрицательных результатов будет в 4 раза больше в этой группе, чем у пациентов, которые тестируются рано. Вероятность неправильной идентификации статуса пациента снижается значительно из-за ложноотрицательного теста, если все отрицательные тесты повторяются через 24 часа. В этом сценарии реализованная частота ошибок (фактическая доля ложноотрицательных тестов) будет пропорциональна основной распространенности инфекции; только если все в группе инфицированы, вероятность ложного отрицания будет равна доле отрицательных тестов (поскольку настоящих отрицательных результатов от незараженных людей не будет).

Полученные данные подтверждают, что следует проявлять осторожность при интерпретации ПЦР-тестов SARS-CoV-2, особенно если они выполняются на ранних стадиях инфекции. Если имеются серьезные клинические подозрения, нельзя исключать пациентов только на основании ПЦР-теста, также следует тщательно изучить клиническую и эпидемиологическую ситуацию. Во многих случаях время воздействия неизвестно, и тестирование проводится в зависимости от времени появления симптомов.

Авторы советуют по возможности тестировать образцы мокроты, поскольку они обеспечивают более высокий уровень обнаружения вируса, чем мазки из носоглотки.

Заключение

Появление противоречивых результатов между КТ грудной клетки и ОТ-ПЦР, описанных в некоторых исследованиях, наряду с доказательством того,

что выделение вируса может все еще происходить на неопределяемых уровнях в очень ранних и поздних фазах инфекции SARS-CoV-2, свидетельствуют о том, что результаты теста ОТ-ПЦР всегда следует интерпретировать в более широком контексте. Данные, полученные в результате предварительных исследований, демонстрируют, что бессимптомные (субклинические) пациенты с COVID-19 могут демонстрировать очень ранние, но парадигматические изменения КТ даже до положительной ОТ-ПЦР, также подтверждают то, что наиболее эффективная стратегия для диагностики COVID-19 у подозреваемых пациентов – это комбинация двух высокочувствительных подходов: ОТ-ПЦР SARS-CoV-2 с клиническими и эпидемиологическими данными и результатами КТ грудной клетки [1, 2, 17].

Кроме того, вероятно, что внешняя оценка качества должна быть создана как можно скорее для целей мониторинга качества наряду с внедрением внутреннего контроля качества и безопасности медицинской деятельности лабораторной службы. Несмотря на стремление обеспечить высокую пропускную способность и короткое время обработки исследований для диагностики инфекции SARS-CoV-2, настоятельно необходима обширная валидация анализа ОТ-ПЦР для обеспечения возможности принятия наиболее подходящих мер общественного здравоохранения на индивидуальной и популяционной основе.

Наконец, также для ОТ-ПЦР-тестов помимо их диагностической чувствительности и специфичности необходимо указывать информацию об их предсказательном значении: положительном и отрицательном предсказательном значении⁵. Такая информация позволит врачам взвешенно подходить к интерпретации отрицательных тестов.

⁵ Положительное предсказательное значение указывает на эффективность методики исследования в ограничении истинно положительных результатов исследования от ложно-положительных результатов исследования для данного целевого состояния в данной популяции. Отрицательное предсказательное значение указывает на эффективность методики исследования в ограничении истинно отрицательных результатов исследования от ложно-отрицательных результатов исследования для данного целевого состояния в данной популяции.

ИСТОЧНИКИ

1. Ai T., Yang Z., Hou H., Zhan C., et al. Correlation of chest CT and RT-PCR testing in coronavirus disease 2019 (COVID-19) in China: a report of 1014 cases. *Radiology* 2020;200642. DOI: 10.1148/radiol.2020200642.
2. Backer J.A., Klinkenberg D., Wallinga J. Incubation period of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) infections among travellers from Wuhan, China, 20–28 January 2020. *Euro Surveill* 2020;25. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.5.2000062.
3. Bi Q., Wu Y., Mei S., Ye C., Zou X., Zhang Z., et al. Epidemiology and Transmission of COVID-19 in Shenzhen China: Analysis of 391 cases and 1,286 of their close contacts <http://dx.doi.org/10.1101/2020.03.03.20028423>.
4. Fang Y., Zhang H., Xie J., et al. Sensitivity of chest CT for COVID-19: comparison to RT-PCR. *Radiology*. Published online Feb 19 2020; <https://doi.org/10.1148/radiol.2020200432>.
5. Feng Hao, Yujian Liu, Minli Lv, and Jianquan Zhong. A case report of COVID-19 with false negative RT-PCR test: necessity of chest CT. *Jpn J Radiol.* 2020 Apr 7; 1–2. doi: 10.1007/s11604-020-00967-9.
6. Kucirka L., Lauer S., Laeyendecker O., medRxiv. DOI: <https://doi.org/10.1101/2020.04.07.20051474>.
7. Kujawski S.A., Wong K.K., Collins J.P., et al. First 12 patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) in the United States. DOI: 10.1101/2020.03.09.20032896.
8. Li D., Wang D., Dong J., et al. 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 Insights from Two Cases *Korean J Radiol.* 2020 Apr; 21(4): 505–508. doi: 10.3348/kjr.2020.0146.
9. Lippi G., Simundic A.M. European Federation for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) Working Group for Preanalytical Phase (WG-PRE). The EFLM strategy for harmonization of the preanalytical phase. *Clin Chem Lab Med* 2018; 56:1660–6. <https://doi.org/10.1515/cclm-2017-0277>.
10. Lippi G., Simundic A.M., Plebani M. Potential preanalytical and analytical vulnerabilities in the laboratory diagnosis of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Clin Chem Lab Med.* 2020 Mar 16. doi: 10.1515/cclm-2020-0285.
11. Lippi G., von Meyer A., Cadamuro J., Simundic A.M. PREDICT: a checklist for preventing preanalytical diagnostic errors in clinical trials. *Clin Chem Lab Med* 2020;58:518–26. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.03.14.20036202>.
12. Paton R.S., Mahan Gi & Lourenço, Wikramaratna P. Estimating false-negative detection rate of SARS-CoV-2 by RT-PCR. medRxiv preprint. DOI: <https://doi.org/10.1101/2020.04.05.20053355>.
13. Shen Z., Xiao Y., Kang L., Ma W., Shi L., Zhang L., et al. Genomic diversity of SARS-CoV-2 in Coronavirus Disease 2019 patients. *Clin Infect Dis* 2020. DOI: 10.1093/cid/ciaa203.
14. Wang W., Xu Y., Gao R.; et al. *JAMA*. Published online March 11, 2020. doi:10.1001/jama.2020.3786.
15. West C.P., Montori V.M., Sampathkumar P. COVID-19 Testing: The Threat of False-Negative Results. *Mayo Clinic Proceedings (pre-proof)*. S0025-6196(20)30365-7. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2020.04.004>
16. Wölfel R., Corman V.M., Guggemos W., et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature.* 2020. DOI: 10.1038/s41586-020-2196-x.
17. Xie X, Zhong Z, Zhao W, Zheng C, Wang F, Liu J. Chest CT for typical 2019-nCoV pneumonia: relationship to negative RT-PCR testing. *Radiology* 2020;200343. DOI: 10.1148/radiol.2020200343.
18. Yi H. 2019 novel coronavirus is undergoing active recombination. *Clin Infect Dis* 2020. DOI: 10.1093/cid/ciaa219.
19. Zou L., Ruan F., Huang M., Liang L., Huang H., Hong Z., et al. SARS-CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients. *New England Journal of Medicine.* 2020. pp. 1177–1179. DOI: 10.1056/nejmc2001737.

Профилактика распространения COVID-19 в медицинских организациях



Транспортировка пациента

- Пациентов с подозрением или подтвержденным COVID-19 необходимо госпитализировать в инфекционный стационар, доставка осуществляется специализированным транспортом
- Персонал и водитель, контактирующие с больными COVID-19 (при подозрении на инфекцию) должны быть обеспечены средствами индивидуальной защиты:



шапочки



противочумные (хирургические) халаты



респираторы (класса FFP3 или NIOSH certified № 95)



защитные очки или экраны



Транспорт и предметы, использованные при транспортировании, обеззараживаются на территории медорганизации на специально оборудованной площадке со стоком и ямой

Дезинфекция

- Профилактическая дезинфекция начинается немедленно при возникновении угрозы заболевания и прекращается **через 5 дней** после ликвидации угрозы заноса возбудителя, включает в себя:



меры гигиены



частое мытье рук с мылом или протирку их кожными антисептиками



регулярное проветривание помещений



проведение влажной уборки

- В кладовой одежда больного хранится в индивидуальных мешках, сложенных в баки или полиэтиленовые мешки
- Медицинские отходы, в т.ч. биологические выделения пациентов, утилизируются в соответствии с санитарно-эпидемиологическими требованиями, применяемыми к отходам класса В

