

ПРОБЛЕМЫ ПЦР-ДИАГНОСТИКИ COVID-19

Т.Д. Григорьева¹, М.А. Белопольская^{1,2}

¹ Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина, Санкт-Петербург, Россия

² Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

Problems of PCR diagnostics OF COVID-19

T.D. Grigorieva¹, M.A. Belopolskaya^{1,2}

¹ Clinical Infectious Diseases Hospital named after S.P. Botkin, Saint-Petersburg, Russia

² Institute of Experimental Medicine, Saint-Petersburg, Russia

Резюме

На сегодняшний день адекватная и своевременная оценка числа заболевших — основа эффективных мероприятий, направленных на предупреждение распространения новой коронавирусной инфекции COVID-19. «Золотым стандартом» подтверждения инфицирования SARS-CoV-2 на сегодняшний день остается полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией в режиме реального времени.

Цель: проанализировать опыт работы городского вирусологического центра Клинической инфекционной больницы им. С.П. Боткина по обследованию на наличие коронавируса SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции в период с 2020 по 2022 г.

Материалы и методы. Проведена систематизация ПЦР-исследований на COVID-19 за период 2020–2022 гг. Всего было обследовано 221 901 человек, положительные результаты получены у 55 372 (24,95 %). Среди контингентов обследованных больных преобладали пациенты, проходившие стационарное лечение в клинической инфекционной больнице им. С.П. Боткина.

Результаты. В данном исследовании проанализированы возможные причины появления ложноположительных и ложноотрицательных результатов ПЦР. Показана корреляция числа положительных результатов с динамикой выявления новых случаев COVID-19 в Санкт-Петербурге в период пандемии 2020–2022 гг. Установлено, что доля пациентов, обследованных за период госпитализации более 3 раз, остается значительной. Этот факт требует самого пристального внимания, учитывая высокую стоимость и трудоемкость ПЦР-исследований.

Ключевые слова: COVID-19, SARS-CoV-2, полимеразная цепная реакция.

Введение

Острая респираторная вирусная инфекция, вызываемая коронавирусом SARS-CoV-2 (COVID-19), — заболевание, приводящее к высокой летальности, в основном, среди лиц пожилого возраста с наличием сопутствующей патологии. 11 марта 2020 г. ВОЗ объявила о начале пандемии COVID-19, продолжающейся по настоящее время [1, 2].

Abstract

To date, an adequate and timely assessment of the number of cases is the basis of effective measures aimed at preventing the spread of COVID-19 infection. Real-time reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) remains the gold standard for confirming COVID-19.

The purpose of the work: to analyze the experience of the city virological center of the S.P. Botkin Clinical Infectious Diseases Hospital (Botkin Hospital) for the examination for the presence of SARS-CoV-2 coronavirus by PCR in the period from 2020 to 2022.

Materials and methods. The systematization of PCR studies on COVID-19 for the period 2020–2022 was carried out. A total of 221,901 people were examined, positive results were obtained in 55,372 (24.95 %). Among the contingents of the examined patients, patients who underwent inpatient treatment at the Botkin Hospital,

Conclusions. This study analyzed the possible causes of false-positive and false-negative PCR results. The correlation of the number of positive results with the dynamics of detection of new cases of COVID-19 in St. Petersburg during the 2020–2022 pandemic is shown. It has been established that the proportion of patients examined more than 3 times during the period of hospitalization remains significant. This fact requires the closest attention, given the high cost and laboriousness of PCR studies.

Key words: COVID-19, SARS-CoV-2, PCR.

По состоянию на 15.05.2022 г. в мире зарегистрировано 521 млн случаев заболевания новой коронавирусной инфекцией, причем 6,26 млн случаев из них закончились летально. В России выявлено 18 млн случаев, летальным исходом закончились 370 тыс. случаев [3].

По международной классификации SARS-CoV-2 отнесен к роду *Betacoronavirus* (подрод *Sarbecovirus*) семейства *Coronaviridae* [4]. Вирус со-

держит оболочку, а геном представлен одонитевой плюс-РНК. Мутирует вирус относительно небыстро. Геномом вируса кодируются ряд неструктурных и структурных (S, E, M, N) белков [5–7].

На сегодняшний день адекватная и своевременная оценка числа заболевших — основа эффективных мероприятий, направленных на предупреждение распространения инфекции. Наиболее широко используемыми методами подтверждения COVID-19 являются методы амплификации нуклеиновых кислот (МАНК), например, полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией в режиме реального времени (ОТ-ПЦР-РВ). Тест-системы на SARS-CoV-2 выявляют чаще всего фрагменты генов N- и S-белков.

Однако, несмотря на то, что метод ОТ-ПЦР-РВ является «золотым стандартом» в диагностике COVID-19, зачастую лаборатории сталкиваются с проблемами появления ложноотрицательных, ложноположительных и сомнительных результатов [8, 9].

В настоящее время в России зарегистрировано, по данным официального сайта Росздравнадзора на 16 мая 2022 г., 113 диагностических наборов на основе ПЦР для детекции вируса SARS-CoV-2 [10].

Одной из приоритетных задач лабораторной диагностики COVID-19 остается повышение достоверности ПЦР-исследований. При проведении массовых тестирований в условиях серьезной загруженности лабораторий появление ошибочных результатов (ложноположительных или ложноотрицательных) неизбежно. Однако необходимо стремиться к уменьшению доли ошибочных результатов, так как эффективность работы противоэпидемической службы, перенаправление потоков пациентов, а также терапевтическая тактика целиком зависят от результатов исследований мазков [11].

Получение ложноотрицательных результатов может приводить к несвоевременной изоляции больных и введению ограничительных мер. Возможных причин появления ложноотрицательных результатов несколько. Во-первых, очень важна правильность выбора материала для исследования. На качество проведения ОТ-ПЦР-РВ может влиять как качество забора проб, так и состав секрета верхних дыхательных путей [12, 13]. В одной из работ показано, что информативность мазка из глотки составляет всего 32% случаев, а максимально информативным (93%) является определение вируса SARS-CoV-2 в жидкости, полученной из легких (бронхоальвеолярный лаваж) [14]. Также РНК вируса SARS-CoV-2 может обнаруживаться в фекалиях больных, причем, согласно некоторым публикациям, длительность детекции вируса в кале по сравнению с мазком из носоглотки гораздо дольше [15, 16]. Также есть данные о детекции

вируса SARS-CoV-2 в крови [17], слюне [18] и даже в спинномозговой жидкости [19]. И все-таки, несмотря на это, проще всего он обнаруживается в мазках из носоглотки, и следовательно, этот материал по-прежнему остается наиболее подходящим для целей рутинной диагностики. Также важным фактором является время отбора проб от начала заболевания. В верхних дыхательных путях вирус SARS-CoV-2 определяется за 1–3 дня до появления симптомов заболевания, а максимальной концентрация вируса в ВДП становится в период разгара клинической симптоматики, после чего она начинает постепенно снижаться [20, 21]. В некоторых случаях РНК вируса может детектироваться в течение нескольких месяцев [22].

Следующим фактором, приводящим к появлению ложноотрицательных результатов, является нарушение технологии преаналитического этапа диагностики. В связи с нестабильностью молекул РНК причиной «потери проб» может стать несоблюдение температурных условий хранения или транспортировки материала, ошибка лаборанта при переносе растворов из одной пробирки в другую (особенно при высокой загрузке лаборатории), а также нарушение протоколов выделения образца. На аналитическом этапе диагностики ложноотрицательные результаты могут явиться следствием нарушения температурного режима хранения реагентов для амплификации, инструкций к наборам, мутаций в геноме самого вируса SARS-CoV-2 или наличия в исходной пробе так называемых ингибиторов амплификации [23].

Получение ложноположительных результатов ведет к появлению случаев необоснованной госпитализации неинфицированных лиц, а также к завышению общей статистики числа инфицированных [24, 25]. Одна из причин появления ложноположительных результатов — контаминация лаборатории нуклеиновыми кислотами. Источниками контаминации, особенно в условиях высокой загрузки лаборатории, могут быть ДНК-ампликоны (продукты ПЦР), исследуемые образцы, а также положительные контрольные образцы, содержащиеся в диагностических наборах.

Перекрестная контаминация появляется при механическом переносе исследуемых образцов в процессе пробоподготовки, выделения или внесения пробы в реакционную смесь. Тотальная контаминация — загрязнение ампликонами рабочих поверхностей, рабочей одежды, оборудования и воздуха в лаборатории.

В зарубежной литературе встречаются сообщения о контаминации целевыми геномными последовательностями вируса SARS-CoV-2 в процессе производства диагностических наборов, что может приводить к появлению ложноположительных результатов ПЦР [26].

Еще одной причиной возникновения ложноположительных результатов при ПЦР-диагностике является образование неспецифической флуоресценции реакционной смеси либо неспецифических продуктов ПЦР, причем вероятность данного события повышается на поздних циклах термоциклирования. Эти ошибки могут возникать в случае нарушения приготовления реакционной смеси, нарушений холодовой цепи в процессе хранения реагентов для амплификации либо ошибок программирования амплификатора.

Особо хочется отметить, что процент ошибочных результатов при ПЦР-диагностике возрастает с увеличением количества исследований, приводящим к возрастанию нагрузки на персонал. В любом случае особо важной задачей остается качественная подготовка персонала, проводящего ПЦР-исследования, в том числе и на вирус SARS-CoV-2, во избежание возникновения всех этих ошибок.

Цель исследования — проанализировать опыт работы городского вирусологического центра Клинической инфекционной больницы им. С.П. Боткина (Больница Боткина) по обследованию на наличие коронавируса SARS-CoV-2 методом ПЦР в период с 2020 по 2022 г.; оценить проблемы, возникающие в ходе проведения исследования клинического материала на наличие РНК SARS-CoV-2 методом ПЦР. Проследить динамику количества исследований мазков из верхних дыхательных путей на SARS-CoV-2 в Больнице Боткина за период 2020 — 2022 гг. и сопоставить количество положительных результатов с пиками подъемов заболеваемости в Санкт-Петербурге.

Материалы и методы исследования

Проведена систематизация ПЦР-исследований на COVID-19 за период 2020 — 2022 гг. Всего было обследовано 221 901 человек, положительные результаты получены у 55 372 (24,95 %). Среди кон-

тингентов обследованных больных преобладали пациенты, проходившие стационарное лечение в Больнице Боткина.

Результаты исследования и обсуждение

За период с начала пандемии COVID-19 тестирование на вирус методом ПЦР в лаборатории городского вирусологического центра Больницы Боткина проводилось различными тест-системами с различными величинами предельной чувствительности (табл. 1).

Все представленные в таблице 1 диагностические наборы основаны на принципе ОТ-ПЦР-РВ. Самая первая тест-система производства ГНЦ «Вектор», поступившая в работу, имела ряд существенных недостатков — заявленная чувствительность теста была невысока и равнялась 10^5 копий на миллилитр. Вторым существенным недостатком было отсутствие ВКО (внутреннего контрольного образца), что не позволяло достоверно контролировать наличие и процент ошибок.

Среди контингентов обследуемых больных в начале пандемии преобладали, в основном, медицинские работники, а с ноября 2020 г. лаборатория ГКДЦ (вирусологический) проводила обследования на вирус SARS-CoV-2 пациентов, находящихся на стационарном лечении в Больнице Боткина (рис. 1, 2).

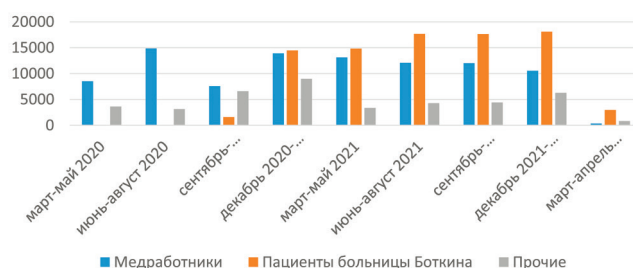


Рис. 1. Количество ПЦР-исследований на COVID-19 в ГКДЦ (вирусологический) в 2020 — 2022 гг.

Таблица 1

Тест-системы для ПЦР-диагностики COVID-19, используемые в лаборатории городского вирусологического центра Больницы Боткина

Период использования	Наименование тест-системы	Производитель
28.03.2020 — 25.05.2020	Вектор-ПЦРrv-2019-nCoV-RG» по ТУ 21.20.23-088-05664012-2020	ФГУ ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора
26.05.2020 — 23.10.2020	«АмплиСенс® Cov-Bat-FL»	ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора
24.10.2020 — 06.12.2020	«COVID-2019 Amp»	ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера
07.12.2020 — 05.10.2021	«АмплиТест SARS-CoV-2»	ФГБУ «ЦСП» ФМБА России
С 06.10.2021 г. по настоящее время	«АмплиПрайм® SARS-CoV-2 DUO» по ТУ 21.20.23-083-09286667-2020	ООО «НекстБио»

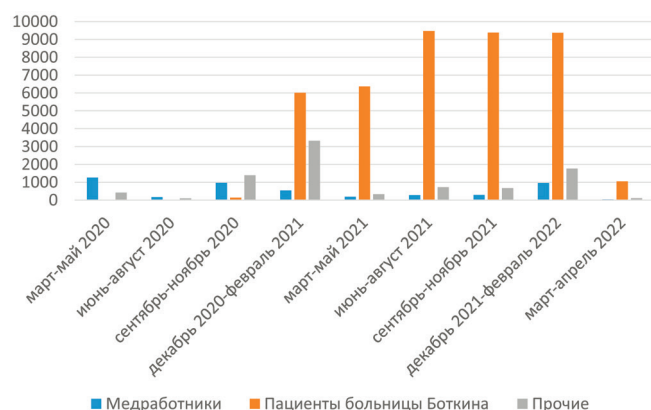


Рис. 2. Количество положительных результатов ПЦР-исследований на COVID-19 в ГКДЦ (вирусологический) в 2020 – 2022 гг.

Как видно из рисунка 3, увеличение числа положительных результатов обследования на COVID-19 методом ПЦР совпадает по времени с пиками заболеваемости в Санкт-Петербурге при относительно равномерной загрузке лаборатории. Соответственно, число положительных результатов максимально в группе больных, проходящих стационарное лечение.

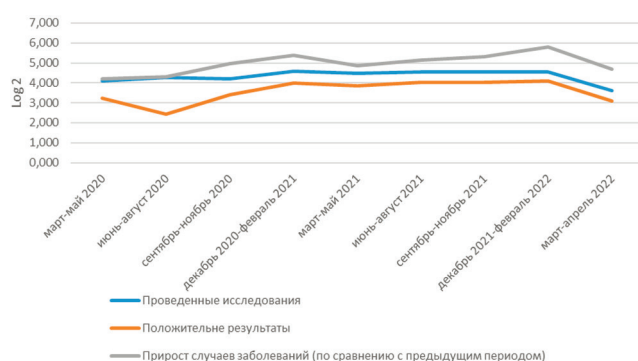


Рис. 3. Соотношение положительных результатов ПЦР-исследований на COVID-19 с динамикой прироста случаев заболеваний в Санкт-Петербурге за период с марта 2020 г. по апрель 2022 г.

За время развития пандемии COVID-19 неоднократно менялись критерии выписки пациентов. Если до ноября 2020 г. необходимым условием выписки было получение 2 отрицательных результатов ПЦР в мазке из носоглотки [27], то в дальнейшем допустимым был однократный отрицательный мазок, а с февраля 2022 г. необходимость в получении контрольных мазков отпала [28]. Однако, как видно из приведенных данных, соотношение лиц, обследованных многократно (3 и более раз) за период госпитализации, остается значительным. Например, в 2022 г. двукратно было обследовано 6278 человек, а доля лиц, обследованных 3 и более раз, составила 55,32%. Похожее соотношение наблюдалось и 2020 и в 2021 гг. (рис. 4 – 6).

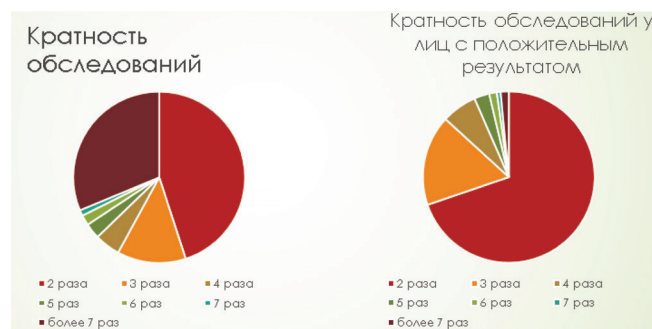


Рис. 4. Кратность ПЦР-исследований на COVID-19 в ГКДЦ (вирусологический) в 2020 г.



Рис. 5. Кратность ПЦР-исследований на COVID-19 в ГКДЦ (вирусологический) в 2021 г.



Рис. 6. Кратность ПЦР-исследований на COVID-19 в ГКДЦ (вирусологический) в 2022 г.

Необходимо помнить, что ПЦР-исследование на вирус SARS-CoV-2 остается достаточно трудоемким и дорогостоящим, а многократные исследования для пациентов, находящихся на стационарном лечении, никак не влияют на тактику ведения таких пациентов.

Выводы

1. На сегодняшний день ПЦР-исследование мазка из носоглотки на вирус SARS-CoV-2 остается «золотым стандартом» диагностики COVID-19, однако проведение данных исследований требует от лаборатории наличия квалифицированных ка-

дров ввиду возможного появления ложноположительных или ложноотрицательных результатов.

2. Используемые в лаборатории городского вирусологического центра Клинической инфекционной больницы им. С.П. Боткина диагностические наборы не имели существенных различий, за исключением набора производства ФГУ ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, не имеющего в своем составе ВКО и отличающегося сравнительно невысокой заявленной чувствительностью.

3. Среди контингентов обследованных больных преобладали пациенты, проходившие стационарное лечение в Больница Боткина, причем динамика количества обследований и числа положительных результатов коррелирует с динамикой выявления новых случаев COVID-19 в Санкт-Петербурге.

4. Доля пациентов, обследованных за период госпитализации более 3 раз, остается значительной. Этот факт требует самого пристального внимания, учитывая высокую стоимость и трудоемкость ПЦР-исследований.

Литература

1. Adhikari SP, Meng S, Wu YJ, et al. Epidemiology, causes, clinical manifestation and diagnosis, prevention and control of coronavirus disease (COVID-19) during the early outbreak period: a scoping review. *Infect Dis Poverty*. 2020;9(1):29. Available from: <https://doi.org/10.1186/s40249-020-00646-x>
2. Lv M, Luo X, Estill J, et al. Coronavirus disease (COVID-19): a scoping review. *Euro Surveill*. 2020;25(15):2000125. Available from: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.15.2000125>
3. COVID-19 Data Repository by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at Johns Hopkins University. <https://github.com/CSSEGISandData/COVID-19>
4. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). 2020 27 July 2020; Available from: <https://talk.ictvonline.org/>.
5. Naqvi, A.A.T., et al., Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: Structural genomics approach. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2020. 1866(10): p. 165878.
6. Yoshimoto, F.K., The Proteins of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS CoV-2 or nCoV19), the Cause of COVID-19. *Protein J*, 2020. 39(3): p. 198-216.
7. Kim, D., et al., The Architecture of SARS-CoV-2 Transcriptome. *Cell*, 2020. 181(4): p. 914-921 e10.
8. Watson J, Whiting PF, Brush JE. Interpreting a COVID-19 test result. *BMJ*. 2020;369:m1808. Available from: <https://doi.org/10.1136/bmj.m1808>
9. Tahamtan A, Ardebili A. Real-time RT-PCR in COVID-19 detection: issues affecting the results. *Expert Rev Mol Diagn*. 2020;20(5):453-454. Available from: <https://doi.org/10.1080/14737159.2020.1757437>
10. Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения / Государственный реестр медицинских изделий и организаций (индивидуальных предпринимателей), осуществляющих производство и изготовление медицинских изделий. Имеется по адресу: <https://www.roszdravnadzor.gov.ru/services/misearch>
11. Цибин, А.Н. Временное руководство по лабораторной диагностике COVID-19 в условиях пандемии : методические рекомендации № 89 / А.Н. Цибин [и др.]. — М.: ГБУ «НИИОЗММ ДЗМ», 2020. — 64 с.
12. Zou, L., et al., SARS-CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients. *N Engl J Med*, 2020. 382(12): p. 1177-1179.
13. Young, B.E., et al., Epidemiologic Features and Clinical Course of Patients Infected With SARS-CoV-2 in Singapore. *JAMA*, 2020.
14. W. Wang et al., "Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens," *JAMA*, Mar. 2020.
15. Zheng, S., et al., Viral load dynamics and disease severity in patients infected with SARS-CoV-2 in Zhejiang province, China, January-March 2020: retrospective cohort study. *BMJ*, 2020. 369: P. 1443.
16. Lescure, F.X., et al., Clinical and virological data of the first cases of COVID-19 in Europe: a case series. *Lancet Infect Dis*, 2020.
17. Chen, W., et al., Detectable 2019-nCoV viral RNA in blood is a strong indicator for the further clinical severity. *Emerg Microbes Infect*, 2020. 9(1): p. 469-473
18. Wyllie, A.L., et al., Saliva or Nasopharyngeal Swab Specimens for Detection of SARS-CoV-2. *N Engl J Med*, 2020.
19. Moriguchi, T., et al., A first case of meningitis/encephalitis associated with SARS-Coronavirus-2. *Int J Infect Dis*, 2020. 94: p. 55-58
20. Li, Q., et al., Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus-Infected Pneumonia. *N Engl J Med*, 2020. 382(13): p. 1199-1207.
21. Backer, J.A., D. Klinkenberg, and J. Wallinga, Incubation period of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) infections among travellers from Wuhan, China, 20-28 January 2020. *Euro Surveill*, 2020. 25(5).
22. Xu, K., et al., Factors associated with prolonged viral RNA shedding in patients with COVID-19. *Clin Infect Dis*, 2020.
23. Галимова, А.А. Протекание полимеразной цепной реакции с праймерми «встык» в присутствии ингибиторов / А. А. Галимова, А. Р. Сахабутдинова, Р. Р. Гарафутдинов // Вестник Башкирского университета. — 2017. — Т. 22, № 4. — С. 1017 — 1021.
24. Surkova E, Nikolayevskyy V, Drobniowski F. False-positive COVID-19 results: hidden problems and costs. *Lancet Respir Med*. 2020;8(12):1167-1168. Available from: [https://doi.org/10.1016/S22132600\(20\)30453-7](https://doi.org/10.1016/S22132600(20)30453-7)
25. Healy B, Khan A, Metezai H, Blyth I, Asad H. The impact of false positive COVID-19 results in an area of low prevalence. *Clin Med (Lond)*. 2021;21(1):e54-e56. Available from: <https://doi.org/10.7861/clinmed.2020-0839>
26. Wang CYT, Buckley C, Bletchly C, Harris P, Whitley D. Contamination of SARS-CoV-2 RT-PCR probes at the oligonucleotide manufacturer. *Pathology*. 2020;52(7):814-816. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.pathol.2020.08.002>
27. Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 13.11.2020 № 35 «О внесении изменений в постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 22.05.2020 № 15 «Об утверждении санитарно-эпидемиологических правил СП 3.1.3597-20 «Профилактика новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» (зарегистрирован 16.11.2020 г. № 60909)
28. Временные методические рекомендации «Профилактика диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции COVID-19». Версия 15 (22.02.2022)

References

1. Adhikari SP, Meng S, Wu YJ, et al. Epidemiology, causes, clinical manifestation and diagnosis, prevention and control of coronavirus disease (COVID-19) during the early outbreak pe-

riod: a scoping review. Infect Dis Poverty. 2020;9(1):29. Available from: <https://doi.org/10.1186/s40249-020-00646-x>

2. Lv M, Luo X, Estill J, et al. Coronavirus disease (COVID-19): a scoping review. Euro Surveill. 2020;25(15):2000125. Available from: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.15.2000125>

3. COVID-19 Data Repository by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at Johns Hopkins University. <https://github.com/CSSEGISandData/COVID-19>

4. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). 2020 27 July 2020]; Available from: <https://talk.ictvonline.org/>.

5. Naqvi, A.A.T., et al., Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: Structural genomics approach. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2020. 1866(10): p. 165878.

6. Yoshimoto, F.K., The Proteins of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS CoV-2 or nCoV19), the Cause of COVID-19. Protein J, 2020. 39(3): p. 198-216.

7. Kim, D., et al., The Architecture of SARS-CoV-2 Transcriptome. Cell, 2020. 181(4): p. 914-921 e10.

8. Watson J, Whiting PF, Brush JE. Interpreting a COVID-19 test result. BMJ. 2020;369:m1808. Available from: <https://doi.org/10.1136/bmj.m1808>

9. Tahamtan A, Ardebili A. Real-time RT-PCR in COVID-19 detection: issues affecting the results. Expert Rev Mol Diagn. 2020;20(5):453-454. Available from: <https://doi.org/10.1080/14737159.2020.1757437>

10. Federal Service for Surveillance in Healthcare / State Register of Medical Devices and Organizations (Individual Entrepreneurs) engaged in the production and manufacture of medical devices. Available at: <https://www.roszdravnadzor.gov.ru/services/misearch>

11. A. N. Tsibin, M. F. Latypova, O. I. Ivanushkina, and S. M. Tsibina. Interim guidance on laboratory diagnostics of COVID-19 in a pandemic: Guidelines No. 89. — M.: GBU "NIIO-ZMM DZM", 2020. — 64 p.

12. Zou, L., et al., SARS-CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients. N Engl J Med, 2020. 382(12): p. 1177-1179.

13. Young, B.E., et al., Epidemiologic Features and Clinical Course of Patients Infected With SARS-CoV-2 in Singapore. JAMA, 2020.

14. W. Wang et al., "Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens," JAMA, Mar. 2020.

15. Zheng, S., et al., Viral load dynamics and disease severity in patients infected with SARS-CoV-2 in Zhejiang province, China, January-March 2020: retrospective cohort study. BMJ, 2020. 369: P. 1443.

16. Lescure, F.X., et al., Clinical and virological data of the first cases of COVID-19 in Europe: a case series. Lancet Infect Dis, 2020.

17. Chen, W., et al., Detectable 2019-nCoV viral RNA in blood is a strong indicator for the further clinical severity. Emerg Microbes Infect, 2020. 9(1): p. 469-473

18. Wyllie, A.L., et al., Saliva or Nasopharyngeal Swab Specimens for Detection of SARS-CoV-2. N Engl J Med, 2020.

19. Moriguchi, T., et al., A first case of meningitis/encephalitis associated with SARS-Coronavirus-2. Int J Infect Dis, 2020. 94: p. 55-58

20. Li, Q., et al., Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus-Infected Pneumonia. N Engl J Med, 2020. 382(13): p. 1199-1207.

21. Backer, J.A., D. Klinkenberg, and J. Wallinga, Incubation period of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) infections among travellers from Wuhan, China, 20-28 January 2020. Euro Surveill, 2020. 25(5).

22. Xu, K., et al., Factors associated with prolonged viral RNA shedding in patients with COVID-19. Clin Infect Dis, 2020.

23. A. A. Galimova, A. R. Sahabutdinova, R. R. Garafutdinov. Protekanie polimeraznoj cepnoj reakcii s prajmermi «vstyk» v prisutstvii ingibitorov / A. A. Galimova, A. R. Sahabutdinova, R. R. Garafutdinov // Vestnik Bashkirskogo universiteta. - 2017. - T. 22., №4. — S. 1017-1021.

24. Surkova E, Nikolayevskyy V, Drobniewski F. False-positive COVID-19 results: hidden problems and costs. Lancet Respir Med. 2020;8(12):1167-1168. Available from: [https://doi.org/10.1016/S22132600\(20\)30453-7](https://doi.org/10.1016/S22132600(20)30453-7)

25. Healy B, Khan A, Metezai H, Blyth I, Asad H. The impact of false positive COVID-19 results in an area of low prevalence. Clin Med (Lond). 2021;21(1):e54-e56. Available from: <https://doi.org/10.7861/clinmed.2020-0839>

26. Wang CYT, Buckley C, Bletchly C, Harris P, Whitley D. Contamination of SARS-CoV-2 RT-PCR probes at the oligonucleotide manufacturer. Pathology. 2020;52(7):814-816. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.pathol.2020.08.002>

27. Decree of the Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation dated November 13, 2020 No. 35 "On Amendments to the Resolution of the Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation dated May 22, 2020 No. 15 "On Approval of the Sanitary and Epidemiological Rules SP 3.1.3597-20" Prevention of a New Coronavirus infections (COVID-19)" (Registered on 11/16/2020 No. 60909)

28. "Interim guidelines" Prevention, diagnosis and treatment of a new coronavirus infection COVID-19. Version 15 (02/22/2022).

Авторский коллектив:

Григорьева Тамара Дмитриевна — заведующая Городского консультативно-диагностического центра (вирусологического) Клинической инфекционной больницы им. С.П. Боткина, к.м.н.; тел.: (812)246-06-16, +7-904-554-50-12, e-mail: tamara.doc@mail.ru

Белопольская Мария Андреевна — к.м.н., врач-инфекционист поликлиники Клинической инфекционной больницы им. С.П. Боткина, научный сотрудник лаборатории хронических вирусных инфекций Института экспериментальной медицины, к.м.н.; тел.: 8(812)777-80-12; +7-921-303-56-67, e-mail: belopolskaya.maria@yahoo.com