

Факторы, способствующие получению ложноотрицательных результатов при проведении диагностики COVID-19 методом обратной транскрипции-полимеразной цепной реакции в реальном времени

А.А. Петров, Т.Е. Сизикова, Н.В. Карулина, О.В. Чухраля, Д.И. Павельев,
Н.А. Сайфулина, А.В. Сапкулов, В.Н. Лебедев, Д.А. Кутаев, С.В. Борисевич

Федеральное государственное бюджетное учреждение «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации», 141306, г. Сергиев Посад, ул. Октябрьская, д. 11

Поступила 09.03.2022 г. Принята к публикации 20.03.2022 г.

Обратная транскрипция – полимеразная цепная реакция в режиме реального времени (ОТ-ПЦР-РВ) в настоящее время занимает ведущее положение при лабораторной диагностике COVID-19. С помощью ОТ-ПЦР-РВ проводят диагностику на ранних стадиях развития болезни. Исследуемые клинические пробы, как правило, представляют мазки из зева и носоглотки. *Цель работы* – выявление и анализ факторов, способствующих получению ложноотрицательных результатов при проведении диагностики COVID-19 методом ОТ-ПЦР-РВ. В качестве таких факторов рассмотрены показатели, характеризующие набор реагентов и условия получения анализируемых клинических проб. Показано, что аналитическая чувствительность метода ОТ-ПЦР-РВ не является основным фактором при оценке возможности получения ложноотрицательных результатов. В работе рассмотрено влияние употребления горячих напитков (чай, кофе), алкоголя и курения (непосредственно перед взятием пробы) на результаты анализа мазков из зева и носоглотки методом ОТ-ПЦР РВ. Установлено, что наибольшее влияние на возможность получения ложноотрицательного результата в ОТ-ПЦР-РВ в мазках из зева оказывает прием горячих напитков перед взятием пробы (вероятность получения ложноотрицательного результата не менее 80 %). Меньший эффект оказывает употребление малых доз алкоголя (0,25–0,33 г этанола на 1 кг массы тела). Курение непосредственно перед взятием пробы не влечет за собой возможность получения ложноотрицательного результата в ОТ-ПЦР-РВ. Ни одно из рассмотренных воздействий не оказывает влияние на возможность получения ложноотрицательных результатов при анализе мазков из носоглотки. Высказаны рекомендации о необходимости одновременного исследования как мазков из зева, так и мазков из носоглотки при проводимой диагностике COVID-19 у амбулаторных пациентов.

Ключевые слова: COVID-19; алкоголь; горячие напитки; диагностика; курение; ложноотрицательный результат; ОТ-ПЦР-РВ.

Библиографическое описание: Петров А.А., Сизикова Т.Е., Карулина Н.В., Чухраля О.В., Павельев Д.И., Сайфулина Н.А., Сапкулов А.В., Лебедев В.Н., Кутаев Д.А., Борисевич С.В. Факторы, способствующие получению ложноотрицательных результатов при проведении диагностики COVID-19 методом обратной транскрипции-полимеразной цепной реакции в реальном времени // Вестник войск РХБ защиты. 2022. Т. 6. № 1. С. 56–65. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2020-6-1-56-65>

Клинические признаки нового коронавирусного заболевания COVID-19, пандемия которого в 2020–2022 гг. охватила практически все обитаемые регионы Земли, не являются строго

специфичными. С появлением новых вариантов возбудителя меняется и картина заболевания. Так, если для заболевания, вызванного исходным вариантом возбудителя COVID-19,

вирусом SARS-CoV-2, основными симптомами являются лихорадка, сухой кашель, одышка, миалгия, повышенная утомляемость, аносмия (нарушение или потеря обоняния), агезия (потеря вкуса). Для заболевания, вызванного наиболее широко распространенным в 2021 г. вариантом «дельта», среди преобладающих симптомов – головная боль, боль в горле, насморк, лихорадка, т.е. в основном те же самые, что и при классическом остром респираторном заболевании [1–5]. Поэтому предварительная постановка диагноза «COVID-19», даже в сочетании с данными эпидемиологического анамнеза, заведомо может нести элемент погрешности.

Изложенное выше определяет проведение специфической лабораторной диагностики как составную часть в борьбе с распространением COVID-19.

При проведении лабораторной диагностики COVID-19, в настоящее время ведущее положение занимает обратная транскрипция-полимеразная цепная реакция в режиме реального времени (ОТ-ПЦР-РВ), в которой проводится обнаружение РНК вируса SARS-CoV-2. С помощью ОТ-ПЦР-РВ проводят диагностику COVID-19 на ранней стадии заболевания. Исследуемые клинические пробы представляют мазки из рото- и носоглотки.

Данный метод характеризуется высокой чувствительностью и специфичностью. Выявление с помощью ОТ-ПЦР-РВ РНК вируса SARS-CoV-2 в клинических пробах, взятых от пациентов с подозрением на заболевание, а также от контактных лиц и лиц, прибывающих из эпидемиологически неблагополучных регионов, однозначно свидетельствует о том, что данный пациент (независимо от его состояния здоровья, потенциально может быть источником распространения возбудителя).

Сравнимого по эффективности по отношению к ОТ-ПЦР-РВ теста при диагностике COVID-19, особенно на ранней стадии болезни, в настоящее время нет. Выявление антител изотипов IgG или IgM может рассматриваться как дополнительные методы диагностики по отношению к ОТ-ПЦР-РВ, поскольку иммунной системе требуется время на выработку антител и их можно определить только спустя 7–20 суток после возникновения симптомов. Выявление антител позволяет оценить состояние иммунной защиты против повторного заболевания коронавирусом и проводить контроль за эффективностью вакцинации. Для диагностики COVID-19 приоритетное значение имеет именно ОТ-ПЦР-РВ, поскольку обнаружение вируса SARS-CoV-2 в клинических пробах, взятых на ранней стадии болезни, нередко

имеет критически важное значение для своевременного развертывания противоэпидемических мероприятий.

Однако при постановке ОТ-ПЦР-РВ возможно и получение ложноотрицательных результатов, поэтому проблема достоверности результатов теста на коронавирус с весны 2020 г. не теряет актуальности. В медицинской практике неоднократно была отмечена ситуация, при которой в клинических пробах пациента с характерными симптомами COVID-19 и патологическими изменениями, зарегистрированными с помощью компьютерной томографии, в ПЦР был выявлен отрицательный результат [6–9].

Цель работы – выявление и анализ факторов, способствующих получению ложноотрицательных результатов при проведении диагностики COVID-19 методом ОТ-ПЦР-РВ.

Среди данных факторов рассмотрены показатели, характеризующие набор реагентов, используемый при проведении анализа, так и показатели исследуемых клинических проб.

В качестве основной причины получения ложноотрицательных результатов на первом этапе развития пандемии называли недостаточно высокую чувствительность метода ОТ-ПЦР-РВ [10]. Средний уровень концентрации геномной РНК при заболевании, вызванном исходным вариантом вируса SARS-CoV-2, составляет $1,0 \cdot 10^5$ геном-эквивалентов (ГЭ) РНК в 1 см^3 пробы [11–14], что примерно соответствовало аналитической чувствительности метода при использовании первых вариантов наборов реагентов¹. Поэтому одним из основных направлений решения проблемы устранения ложноотрицательных результатов, связанных с недостаточной высокой аналитической чувствительностью используемого метода, является создание набора реагентов, использование которого минимизирует указанные риски.

Второй важной причиной получения ложноотрицательных результатов в ПЦР являются характеристики исследуемых клинических проб, к которым относятся природа исследуемого материала, время взятия пробы после появления клинических признаков заболевания, предварительная подготовка для проведения забора проб, процесс взятия проб [9].

Решение проблемы устранения ложноотрицательных результатов при диагностике COVID-19 методом ОТ-ПЦР-РВ может быть достигнуто при решении задач по представленным направлениям.

Материалы и методы

В экспериментах были использованы клинические пробы (мазки с зева и носоглотки),

¹ URL: SARS-CoV-2-IT (amplisens.ru) (дата обращения: 17.06.2021).



Рисунок 1 – Внешний вид набора реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 методом ОТ-ПЦР-РВ (фотография авторов)

взяты от лиц, у которых за сутки до проведения экспериментов с помощью ОТ-ПЦР-РВ был установлен положительный результат на наличие в пробах РНК вируса SARS-CoV-2.

В качестве дополнительного положительного контрольного образца в экспериментах был использован штамм У-2 вируса SARS-CoV-2, полученный из коллекции вирусов ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России.

При постановке ОТ-ПЦР-РВ использовали разработанный в ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России набор реагентов для выявления РНК вируса SARS-CoV-2 [15], регистрационное удостоверение № РЗН 2022220/9969 от 03.04.20 г. (рисунок 1). В качестве гена, на котором расположен участок гибридизации олигонуклеотидных праймеров выбран ген OFR-1ab. Олигонуклеотидные праймеры и олигонуклеотидный зонд, используемые в ПЦР, имеют специфическую область гибридизации – позиции нуклеотидных остатков (н.о.) 5327–5518 в составе генома вируса SARS-CoV-2 в области указанного гена.

Структура олигонуклеотидных праймеров и зонда, используемых в наборе реагентов для выявления РНК вируса SARS-CoV-2, представлена в таблице 1.

Результаты и обсуждение

Разработанный в ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России набор реагентов позволяет

специфично выявлять РНК вируса SARS-CoV-2 в препаратах с концентрацией не менее $1,0 \cdot 10^3$ ГЭ/см³. С учетом того, что при заболевании, вызванном вариантом «дельта» вируса SARS-CoV-2, средний уровень концентрации возбудителя в слюне составляет величину порядка $1,0 \cdot 10^7$ ГЭ/см³, можно считать, что аналитическая чувствительность метода не является основным фактором при оценке возможности получения ложноотрицательных реакций.

В качестве такового также не рассматривается несвоевременное взятие проб. Отрицательный результат, выявленный в таких пробах, по своей сути не является ложноотрицательным, так как он отражает истинное положение вещей – в исследуемой пробе отсутствует РНК вируса SARS-CoV-2. Диагноз «COVID-19» в этом случае можно поставить только ретроспективно по выявлению в сыворотке крови пациента специфических антител или по данным компьютерной томографии легких.

В качестве основного показателя, определяющего возможность получения ложноотрицательного результата рассмотрены условия взятия проб. В ранее проведенных исследованиях по диагностике COVID-19, выполненных в ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, при анализе 2830 положительных проб, установлено, что в пробах от одного больного, расчетная концентрация вируса SARS-CoV-2 в мазке из зева в 100 % случаев равна или превосходит таковую в мазке из носоглотки. Однако вполне очевидно, что на пробу из зева гораздо легче оказать внешнее воздействие, чем на пробу из носоглотки.

Проведена оценка возможности получения ложноотрицательного результата в пробах из зева и носоглотки больных COVID-19, полученных после искусственного воздействия на место взятия пробы. В качестве такого воздействия использованы:

- употребление перед взятием пробы (временные интервалы 10, 20, 30, 60 мин) горячих напитков (чай, кофе);
- употребление непосредственно перед взятием пробы алкоголя (в дозе 0,25–0,33 г этанола на 1 кг массы тела, расчет проведен исходя

Таблица 1 – Олигонуклеотидные праймеры и зонд, используемых в наборе реагентов для выявления РНК вируса SARS-CoV-2

Компонент	Первичная структура (5/ - 3/)
Прямой праймер SARS-CoV-2 _up:	TTGAAGTTTAATCCACCTGCT
Обратный праймер SARS-CoV-2 _low:	ACCGTTCAAGACTCTTTTGC
Меченный флуоресцентным красителем олигонуклеотидный зонд	(R6G)-CTTATTACAGAGCAAGGGCTGGTGAAG-(RTQ2)

Таблица 2 – Результаты изучения влияния употребления горячих напитков перед взятием проб на возможность получения ложноотрицательного результата при диагностике COVID-19

№ добровольцев	Результаты ОТ-ПЦР-РВ в пробах взятых на время, мин				
	-10	+10	+20	+40	+60
1	+/+	-/+	-/+	+/+	+/+
2	+/+	-/+	+/+	+/+	+/+
3	+/+	-/+	-/+	-/+	+/+
4	+/+	-/+	-/+	+/+	+/+
5	+/+	-/+	-/+	+/+	+/+
Доля ложноотрицательных результатов, процент, $X \pm \sigma$	$\frac{0+20}{0+20}^A$	$\frac{100-20}{0+20}^B$	$\frac{80 \pm 20}{0+20}^B$	$\frac{20 \pm 20}{0+20}^Г$	$\frac{0+20}{0+20}^Д$
Положительный контроль, штамм У-2 вируса SARS-CoV-2, концентрация $1 \cdot 10^3$ ГЭ/см ³	+				
Примечания.					
1. Здесь и в дальнейшем «-10» – проба, взятая за 10 мин перед внешним воздействием, «+10» – проба, взятая через 10 мин после внешнего воздействия.					
2. «+/+», «-/+» в числителе представлен результат ОТ-ПЦР-РВ в мазке из зева, в знаменателе – в мазке из носоглотки.					
3. «+» -положительный, «-» – отрицательный результат в каждой из трех повторностей опыта.					
4. $X \pm \sigma$ – среднее значение и его среднее квадратическое отклонение, рассчитывали по [16].					
5. Различия А-Б и А-В статистически достоверны с вероятностью $p < 0.01$, различия А-Г и А-Д статистически недостоверны.					

из указанного производителем содержания спирта в алкогольном напитке), при использовании тех же временных интервалов;

- курение непосредственно (временной интервал менее 10 мин) перед взятием пробы.

За ложноотрицательный результат принимали отрицательный результат в ОТ-ПЦР-РВ в исследуемой пробе, полученной после проведенного воздействия, при положительном определении в пробе, полученной до проведения внешнего воздействия.

В экспериментах приняли участие 5 пациентов с подтвержденным в ОТ-ПЦР-РВ диагнозом «COVID-19». Каждую полученную пробу исследовали в трехкратной повторности. Данные, полученные при определении воздействия на результаты ОТ-ПЦР-РВ горячих напитков представлены в таблице 2.

Как следует из представленных данных, употребления горячих напитков может являться причиной получения ложноотрицательного результата в пробах из зева. В пробах,

Таблица 3 – Результаты изучения влияния приема алкоголя перед взятием проб на возможность получения ложноотрицательного результата при диагностике COVID-19

№ добровольцев	Результаты ОТ-ПЦР-РВ в пробах взятых на время, мин				
	-10	+10	+20	+40	+60
1	+/+	-/+	-/+	+/+	+/+
2	+/+	-/+	+/+	+/+	+/+
3	+/+	-/+	-/+	-/+	+/+
4	+/+	-/+	-/+	+/+	+/+
5	+/+	-/+	-/+	+/+	+/+
Доля ложноотрицательных результатов, процент, $X \pm \sigma$	$\frac{0+20}{0+20}^A$	$\frac{60 \pm 24}{0+20}^B$	$\frac{20 \pm 20}{0+20}^B$	$\frac{0 \pm 20}{0+20}^Г$	$\frac{0+20}{0+20}^Д$
Положительный контроль, штамм У-2 вируса SARS-CoV-2, концентрация $1 \cdot 10^3$ ГЭ/см ³	+				
Примечания.					
1. См. примечания к таблице 2.					
2. Различия А-Б статистически достоверны с вероятностью $p < 0.05$, различия А-В статистически недостоверны.					

Таблица 4 – Результаты изучения влияния курения перед взятием проб на возможность получения ложноотрицательного результата при диагностике COVID-19

№ добровольцев	Результаты ОТ-ПЦР-РВ в пробах, взятых на время менее 10 мин после выкуренной сигареты
1	+/+
2	+/+
3	+/+
5	+/+
Положительный контроль, штамм У-2 вируса SARS-CoV-2, концентрация 1·10 ³ ГЭ/см ³	+
<i>Примечание. См. примечания к таблице 2.</i>	

взятых у пациентов спустя 10 мин после употребления горячего чая (пациенты № 1 и 2) или кофе (добровольцы № 3–5), получен отрицательный результат, который с учетом положительного результата реакции, полученного до употребления горячих напитков, можно рассматривать как ложноотрицательный.

Восстановление положительного результата в пробах от всех добровольцев установлено только через 1 ч после приема горячих напитков. На выявление РНК вируса SARS-CoV-2 в пробах из носоглотки употребление горячих напитков влияния не оказывает.

Результаты, полученные при определении воздействия на результаты ОТ-ПЦР-РВ алкоголя и представленные в таблице 3, свидетельствуют о том, что ложноотрицательный результат был установлен в пробах, взятых через 10 (у 2 добровольцев из 5) и через 20 мин (у одного добровольца).

На выявление возбудителя в пробах из носоглотки прием алкоголя также не оказал воздействия.

Данные, полученные при определении воздействия на результаты ОТ-ПЦР-РВ ку-

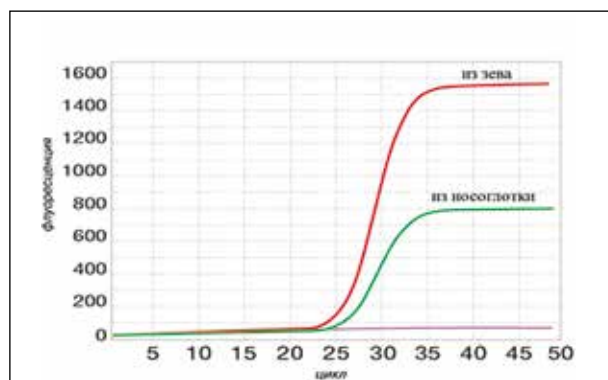
рения, представленные в таблице 4, свидетельствуют о том, что выкуренная сигарета не стала причиной регистрации ложноотрицательного результата ни в пробах из зева, ни в пробах из носоглотки, взятых на срок менее 10 мин после окончания курения, ни у одного добровольца.

Анализ представленных данных свидетельствует о том, что в результате определенных действий пациента непосредственно перед взятием мазка из зева возможно получение ложноотрицательного результата ПЦР при диагностике COVID-19. Следует отметить, что на результат анализа мазков из носоглотки описанные манипуляции (прием горячих напитков, прием алкоголя (в дозе 0,25–0,33 г этанола на 1 кг массы тела) и курение непосредственно перед взятием мазка влияния не оказывают.

При этом для каждого испытуемого в контрольных пробах из зева концентрация РНК вируса SARS-CoV-2 была выше, чем в контрольных пробах из носоглотки, что подтверждено сравнением числа циклов ПЦР до выхода кривой флуоресценции на плато (рисунок 2).

Согласно существующим рекомендациям МЧС, за 2 ч перед процедурой взятия мазка пациентам не следует принимать пищу и пить, пользоваться спреями для горла и носа, жевательной резинкой, а также чистить зубы и красить губы². Однако экспериментальное обоснование этих ограничений до настоящего времени проведено не было.

Как известно, отрицательный результат ПЦР теста на выявление возбудителя COVID-19 является основанием для получения QR-кода, действующего в течение 48 ч. Получение QR-кода на указанный временной интервал, чаще всего используется перед госпитализацией или заграничной поездкой. Необходимо подчеркнуть, что именно развитое транспортное сообщение является одной из причин быстрого распространения заболевания. В ноябре 2020 г.

**Рисунок 2 – Кривые флуоресценции при анализе проб из носоглотки и зева для выявления РНК вируса SARS-CoV-2**² Там же.

в ЮАР и Ботсване выявлен новый вариант вируса SARS-CoV-2 (B.1.1.529)³, впоследствии получивший название вариант «омикрон». Уже спустя 1 месяц данный вариант был выявлен более чем в 100 странах⁴ и стал одним из ведущих агентов пандемии COVID-19. Ввиду вероятной монофелитичности возникновения указанного варианта, такое могло произойти только в том случае, если среди лиц, покинувших ЮАР после 20 ноября, были инфицированные новым вариантом возбудителя COVID-19, а проведенный контроль дал ложноотрицательный результат.

Отмеченная для варианта «омикрон» скорость распространения могла наблюдаться в начале вспышки заболевания (при отсутствии средств диагностики и эпидемического контроля). Однако с учетом того, что органы здравоохранения были своевременно извещены о месте появления нового варианта вируса SARS-CoV-2 (отнесенного ВОЗ к категории «вызывающих опасения»), базовые характеристики наборов реагентов, используемых при диагностике COVID-19, по отношению к варианту «омикрон» остались на прежнем уровне, одним из возможных объяснений столь высокой скорости распространения являются искусственно созданные ложноотрицательные результаты при проведении контроля пассажиров поездов. Как следствие – налицо негативное воздействие на эпидемическую ситуацию по COVID-19.

Выводы

Аналитическая чувствительность метода ОТ-ПЦР-РВ не является основным фактором при оценке возможности получения ложноотрицательных реакций при диагностике COVID-19. В качестве возможных причин регистрации ложноотрицательного результата ОТ-ПЦР-РВ в пробах больных, с подтвержденным диагнозом COVID-19, изучено влияние приема горячих напитков, алкоголя и курения (непосредственно перед взятием пробы) на результаты анализа мазков из зева из носоглотки.

Установлено, что наибольшее влияние на получение ложноотрицательного результата в ОТ-ПЦР-РВ в мазках из зева оказывает прием горячих напитков перед взятием пробы.

Во всех пробах, взятых спустя 10 мин после приема горячего чая или кофе, был выявлен ложноотрицательный результат. Положительный результат в мазках из зева у всех добровольцев был выявлен только через 1 ч после употребления горячих напитков.

На получение ложноотрицательного результата теста ОТ-ПЦР-РВ в мазках из зева в отдельных случаях (у 3 из 5 добровольцев при взятии пробы через 10 мин) может оказывать влияние прием даже небольших доз алкоголя (0,25–0,33 г этанола на 1 кг массы тела). Положительный результат в мазках из зева у всех добровольцев был выявлен через 40 мин после приема алкоголя.

Курение непосредственно перед взятием пробы не оказывает влияния на получение ложноотрицательного результата в ОТ-ПЦР-РВ.

Ни одно из рассмотренных воздействий не оказывает влияние на возможность получения ложноотрицательного результата ОТ-ПЦР-РВ при анализе мазков из носоглотки.

При анализе свыше 300 мазков из зева и носоглотки, взятых с соблюдением установленных правил, ранее было установлено, что концентрация возбудителя COVID-19 в мазке из зева выше, чем соответствующий показатель в мазке из носоглотки. При низкой концентрации возбудителя в пробах установлена возможность получения положительного результата ОТ-ПЦР-РВ в пробах из зева при отрицательном результате в пробах из носоглотки. Для амбулаторных пациентов (с учетом установленной возможности получения ложноотрицательного результата в мазках из зева) можно рекомендовать обязательное исследование мазков, взятых как из зева, так и из носоглотки. В этом случае положительный результат ОТ-ПЦР-РВ в мазке из зева (при отрицательном результате в мазке из носоглотки) может свидетельствовать о концентрации возбудителя в последнем мазке ниже аналитической чувствительности метода. Противоположный результат (отрицательный в мазке из зева и положительный в мазке из носоглотки), с учетом ранее полученных данных для госпитализированных пациентов, с большой долей вероятности может рассматриваться как попытка воздействия на результаты анализа.

³ Science Brief: Omicron (B. 1.1.529) Variant | CDC. URL: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/science/science-briefs/scientific-brief-omicron-variant.html> (дата обращения: 22.01.2022).

«Потенциально самый опасный» штамм коронавируса обнаружили в ЮАР - РИА Новости, 25.11.2021 (ria.ru). URL: https://yandex.ru/news/story/Potencialno_samyj_opasnyj_shtamm_koronavirusa_B.1.1.529_obnaruzhili_vYUAR--56cada3cb764ca0cda7b3bff3c5cf677?lang=ru&fan=1&stid=F5CxAkeRdCavLZZenOHU&persistent_id=4049&story=db1dea54-e110-52b4-82eb-b338ffeb182 (дата обращения: 22.01.2022).

⁴ Enhancing response to Omicron SARS-CoV-2 variant: Technical brief and priority actions for Member States. URL: [2022-01-07-global-technical-brief-and-priority-action-on-omicron---corr2.pdf](https://www.who.int/publications/m/item/enhancing-response-to-omicron-sars-cov-2-variant-technical-brief-and-priority-actions-for-member-states) (who.int) (дата обращения: 22.01.2022).

Вклад авторов / Authors Contribution:

Все авторы внесли свой вклад в концепцию рукописи, участвовали в обсуждении и написании этой рукописи, одобрили окончательную версию. Все авторы прочитали и согласились с опубликованной версией рукописи. / All authors contributed to the conception of the manuscript, the discussion, and writing of this manuscript, approved the final version. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Информация о конфликте интересов

Авторы заявляют, что исследования проводились при отсутствии любых коммерческих или финансовых отношений, которые могли бы быть истолкованы как потенциальный конфликт интересов.

Сведения о рецензировании

Статья прошла открытое рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала и в РИНЦе.

Финансирование. Федеральное государственное бюджетное учреждение «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации», г. Сергиев Посад.

Список источников/References

1. South A.M., Diz D.I., Chappell M.C. COVID-19, ACE2, and the cardiovascular consequences // *Heart and Circulatory Physiology*. 2020. V. 318. № 5. P. 1084–1090.
2. Grant M.C., Geoghegan L., Arbyn M. et al. The prevalence of symptoms in 24.410 adults infected by the novel coronavirus (SARS-CoV-2; COVID-19): a systematic review and meta-analysis of 148 studies from 9 countries // *PLOS ONE*. 2020. V. 15. № 6. P. e0234765. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0234765>
3. CDC COVID-19 Response Team. SARS-CoV-2 B.1.1.529 (Omicron) Variant - United States, December 1-8, 2021. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2021. V. 70. № 50. P. 1731–1734. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm7050e1>
4. Scribne H. Doctor reveals new nightly omicron variant symptom // *Deseret News*. Archived from the original on 2 January 2022.
5. Oran D., Topol E.J. Prevalence of asymptomatic SARS-CoV-2 infection: a narrative review // *Ann. Int. Med.* 2020. V. 173. P. 362–367. <https://doi.org/10.7326/M20-3012> PMID 32491919
6. Arevalo-Rodriguez I., Buitrago-Garcia D., Simancas-Racines D. et al. False-negative results of initial RT-PCR assays for COVID-19: A systematic review // *PLoS One*. 2020. V. 15(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0242958>
7. Long C., Xu H., Shen Q. et al. Diagnosis of the Coronavirus disease (COVID-19): rRT-PCR or CT? // *Eur. J. Radiol.* 2020. 108961. <https://doi.org/10.1016/j.ejrad.2020.108961>
8. Pecoraro V., Negro A., Pirotti T., Trenti T. Estimate false-negative RT-PCR rates for SARS-CoV-2. A systematic review and meta-analysis // *Eur. J. Clin. Invest.* 2022. V. 52(2). <https://doi.org/10.1111/eci.13706>
9. Kanji J.N., Zelyas N., MacDonald C. et al. False negative rate of COVID-19 PCR testing: a discordant testing analysis // *Virol. J.* 2021. V. 18(1). <https://doi.org/10.1186/s12985-021-01489-0>
10. Alsharif W., Qurashi A. Effectiveness of COVID-19 diagnosis and management tools: A review. *Radiography (Lond)* // 2021. V. 27(2). P. 682–687. <https://doi.org/10.1016/j.radi.2020.09.010>
11. Tan W., Aboulhosn J. The cardiovascular burden of coronavirus disease 2019 (COVID-19) with a focus on congenital heart disease // *Int. J. Cardiol.* 2020. V. 309. P. 70–77. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2020.03.063>
12. Bai Y., Yao L., Wei T., Tian F., Jin D.Y., Chen L. et al. Presumed asymptomatic carrier transmission of COVID-19 // *JAMA*. 2020. V. 323. № 14. P. 1406–1407. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.2565>
13. Mizumoto K., Kagaya K., Zarebski A., et al. Estimating the asymptomatic proportion of coronavirus disease 2019 (COVID-19) cases on board the Diamond Princess cruise ship, Yokohama, Japan, 2020 // *Euro Surveill.* 2020. V. 25. № 10. P. 2000180. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.10.2000180>
14. Masters P.S. The molecular biology of coronaviruses // *Adv. Virus. Res.* 2006. V. 66. P. 193–292. [https://doi.org/10.1016/S0065-3527\(06\)66005-3](https://doi.org/10.1016/S0065-3527(06)66005-3)
15. Патент РФ № 2732608 (2020).
Patent RU № 2732608 (2020). (in Russian).
16. Генес В.С. Некоторые простые методы кибернетической обработки данных диагностических и физиологических исследований. М.: Наука, 1967.
Genes V.S. Some simple methods of cybernetic data processing of diagnostic and physiological studies. Moscow: Nauka, 1967. (in Russian).

Об авторах

Федеральное государственное бюджетное учреждение «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации», 141306, г. Сергиев Посад, ул. Октябрьская, д. 11.

Петров Александр Анатольевич. Начальник отдела, д-р мед. наук.

Сизикова Татьяна Евгеньевна. Научный сотрудник, канд. биол. наук.

Карулина Наталья Васильевна. Научный сотрудник, канд. биол. наук.

Чухраля Олег Васильевич. Заместитель начальника отдела.

Павельев Дмитрий Игоревич. Научный сотрудник.

Сайфулина Наталья Александровна. Младший научный сотрудник.

Сапкулов Алексей Владимирович. Помощник начальника ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России.

Лебедев Виталий Николаевич. Ведущий научный сотрудник, д-р биол. наук, проф.

Кутаев Дмитрий Анатольевич. Начальник отдела планирования научно-исследовательских работ – заместитель начальника ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России по научно-исследовательской работе, канд. биол. наук.

Борисевич Сергей Владирирович. Начальник ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, д-р биол. наук, проф., член-корр. РАН.

Контактная информация для всех авторов: 48cnii@mil.ru

Контактное лицо: Борисевич Сергей Владимирович: 48cnii@mil.ru

Factors Contributing to False Negative Results when Performing Diagnostics of COVID-19 by Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction in Real Time

A.A. Petrov, T.E. Sizikova, N.V. Karulina, O.V. Chuhralya, D.I. Paveliev,

N.A. Saifulina, A.V. Sapkulov, V.N. Lebedev, D.A. Kutaev, S.V. Borisevich

Federal State Budgetary Establishment «48 Central Scientific Research Institute» of the Ministry of the Defense of the Russian Federation, Russian Federation, 141306 Sergiev Posad, Oktyabrskaya st., 11

Received March 9, 2022. Accepted for publication March 20, 2022

Reverse transcription-real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) is currently the leading laboratory diagnostic tool for COVID-19. With the help of RT-PCR-RT, diagnostics is carried out at the early stages of the development of the disease. The studied clinical samples, as a rule, are swabs from the pharynx and nasopharynx. The aim of the work is to identify and analyze the factors that contribute to false negative results when diagnosing COVID-19 by RT-PCR-RT. It is shown in the article, that the analytical sensitivity of the real-time RT-PCR method is not the main factor in assessing the possibility of obtaining false negative results. The paper considers the effect of drinking hot drinks (tea, coffee), alcohol and smoking (immediately before sampling) on the results of the analysis of swabs from the pharynx and nasopharynx by RT-PCR RT. It was found that the intake of hot drinks before sampling (the probability of obtaining a false negative result is at least 80%) influences most of all on the possibility of obtaining a false negative result in RT-PCR-RT in swabs from the pharynx. The use of small doses of alcohol (0.25–0.33 g of ethanol per 1 kg of body weight) has a lesser effect. Smoking immediately prior to sample collection does not lead to a false negative result in real-time RT-PCR. None of the considered influences affects the possibility of obtaining false negative results in the analysis of swabs from the nasopharynx. Recommendations were made on the need for simultaneous examination of both throat swabs and nasopharyngeal swabs in the ongoing diagnosis of COVID-19.

Keywords: COVID-19; diagnostics; false negative results; transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) in real time.

For citation: Petrov A.A., Sizikova T.E., Karulina N.V., Chuhralya O.V., Paveliev D.I., Saifulina N.A., Sapkulov A.V., Lebedev V.N., Kutaev D.A., Borisevich S.V. Factors Contributing to False Negative Results when Performing Diagnostics of COVID-19 by Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction in Real Time // *Journal of NBC Protection Corps*. 2021. V. 6. No 1. P. 56–65. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2021-6-1-56-65>

Conflict of interest statement

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationship that could be construed as a potential conflict of interest.

Peer review information

The article has been peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board and from Russian Science Citation Index database.

Funding. Federal State Budgetary Establishment «48 Central Scientific Research Institute» of the Ministry of the Defense of the Russian Federation.

References

See P. 62.

Authors

Federal State Budgetary Establishment «48 Central Scientific Research Institute» of the Ministry of the Defense of the Russian Federation, 141306 Russian Federation, Sergiev Posad, Oktyabrskaya st., 11.

Aleksandr Anatol'evich Petrov. Chief of department, Doctor of Medical Sciences

Tat'jana Evgen'evna Sizikova. Researcher, Candidate of Biologic Sciences

Natal'ya Vasil'evna Karulina. Researcher, Candidate of Biologic Sciences

Oleg Vasil'evich Chuhralya. Assistant of chief of department

Dmitriy Igorevich Paveliev. Researcher

Natal'ya Aleksandrovna Saifulina. Junior Researcher

Aleksey Vladimirovich Sapkulov. Assistant of head of Federal State Budgetary Establishment «48 Central Scientific Research Institute» of the Ministry of the Defense of the Russian Federation

Vitaliy Nikolaevich Lebedev. Leading researcher, Doctor of Biologic Sciences, Professor

Dmitriy Anatol'evich Kutaev. Deputy head of Federal State Budgetary Establishment «48 Central Scientific Research Institute» of the Ministry of the Defense of the Russian Federation, Candidate of Medical Sciences

Sergey Vladimirovich Borisevich. Head of Federal State Budgetary Establishment «48 Central Scientific Research Institute» of the Ministry of the Defense of the Russian Federation, Corresponding member of Russian Academy of Sciences, Doctor of Biologic Sciences, Professor.

Contact information for all authors: 48cnii@mil.ru

Contact person: Sergey Vladimirovich Borisevich: 48cnii@mil.ru