

Usporedba mikrobioloških testova u dijagnostici COVID - 19 bolesti

Antić, Sanja

Undergraduate thesis / Završni rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Pula / Sveučilište Jurja Dobrile u Puli**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:137:993261>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-18**



Repository / Repozitorij:

[Digital Repository Juraj Dobrila University of Pula](#)



Sveučilište Jurja Dobrile u Puli
Medicinski fakultet u Puli
Preddiplomski stručni studij Sestrinstvo

SANJA ANTIĆ
USPOREDBA MIKROBIOLOŠKIH TESTOVA U DIJAGNOSTICI
COVID 19 BOLESTI
Završni rad

Pula, rujan, 2021. godine

Sveučilište Jurja Dobrile u Puli
Medicinski fakultet u Puli
Preddiplomski stručni studij Sestrinstvo

SANJA ANTIĆ
USPOREDBA MIKROBIOLOŠKIH TESTOVA U DIJAGNOSTICI
COVID 19 BOLESTI
Završni rad

JMBAG: 0303084601, izvanredna studentica

Studijski smjer: Preddiplomski stručni studij Sestrinstvo

Predmet: Mikrobiologija s parazitologijom

Znanstveno područje: Biomedicina i zdravstvo

Znanstveno polje: Kliničke medicinske znanosti

Znanstvena grana: Medicinska mikrobiologija

Mentor: mr.sc.Lorena Lazarić Stefanović, dr.med.spec.mikrobiolog

Pula, rujan, 2021.



IZJAVA O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, dolje potpisana Sanja Antić, kandidat za prvostupnika Sestrinstva, ovim izjavljujem da je ovaj Završni rad rezultat isključivo mogega vlastitoga rada, da se temelji na mojim istraživanjima te da se oslanja na objavljenu literaturu kao što to pokazuju korištene bilješke i bibliografija. Izjavljujem da niti jedan dio Završnog rada nije napisan na nedozvoljen način, odnosno da je prepisan iz kojega necitiranog rada, te da ikoji dio rada krši bilo čija autorska prava. Izjavljujem, također, da nijedan dio rada nije iskorišten za koji drugi rad pri bilo kojoj drugo visokoškolskoj, znanstvenoj ili radnoj ustanovi.

Student



IZJAVA

o korištenju autorskog djela

Ja, Sanja Antić dajem odobrenje Sveučilištu Jurja Dobrile u Puli, kao nositelju prava iskorištavanja, da moj završni rad pod nazivom „Usporedba mikrobioloških testova u dijagnostici COVID 19 bolesti“ koristi na način da gore navedeno autorsko djelo, kao cjeloviti tekst trajno objavi u javnoj internetskoj bazi Sveučilišta Jurja Dobrile u Puli te kopira u javnu internetsku bazu završnih radova Nacionalne i sveučilišne knjižnice (stavljanje na raspolaganje javnosti), sve u skladu s Zakonom o autorskom pravu i drugim srodnim pravima i dobrom akademskom praksom, a radi promicanja otvorenoga, slobodnoga pristupa znanstvenim informacijama.

Za korištenje autorskog djela na gore navedeni način ne potražujem naknadu.

U Puli, 2021.

Potpis

ZAHVALA

Veliku zahvalnost dugujem Loreni Lazarić Stefanović dr.med.spec.mikrobiologije na pomoći izrade ovog završnog rada. Hvala i Ivi Polić Kljaić dr. spec. infektologije. Zahvaljujem se obitelji i prijateljima na podršci tijekom mog školovanja.

SADRŽAJ

1. Uvod.....	1
2. Obrada teme	2
2.1. Povijest COVID - 19 bolesti	2
2.2. Etiologija	2
2.3. Klinička slika	3
2.4. Dijagnostika	5
2.4.1. Uzorci za testiranje.....	5
2.4.2. RT-qPCR – kvantitativni test lančane reakcije polimerazom postupkom obrnute transkriptaze.....	6
2.4.3. Brzi antigenski testovi (BAT)	7
2.5. Uloga medicinske sestre u uzorkovanju briseva za dijagnostiku Covid-19 bolesti	10
2.6. Samozaštita medicinskih sestara.....	10
2.7. Postupak uzimanja uzoraka.....	11
2.8. Tehnike prikupljanja uzoraka za COVID - 19 testiranje.....	12
2.8.1. Gornji respiratorni trakt.....	12
2.8.2. Donji respiratorni trakt	14
2.9. Rukovanje i pohrana uzoraka	15
3. Cilj istraživanja	16
4. Materijali i metode	17
5. Rezultati	18
6. Rasprava.....	27
7. Zaključak.....	31
Literatura	32
Popis slika, tablica i grafikona	38
Sažetak	40

Summary..... 41

Popis kratica

ACE2 - Angiotenzin konvertirajući enzim 2

BAT- Brzi antigenski test

COVID-19- Koronavirusna bolest 2019 (od engl. Coronavirus disease 2019)

DNK- Deoksiribonukleinska kiselina

ECDC- Europski centar za kontrolu i prevenciju bolesti (od engl. European center for control and prevention disease)

EU- Europska komisija

FFP2- Respiratorna maska sa 95% zaštite od aerosolnih čestica

FFP3- Respiratorna maska sa 99% zaštite od aerosolnih čestica

KN95-Respiratorna maska sa 95% zaštite od aerosolnih čestica (Kina)

NAAT-Test amplifikacije nukleinske kiseline (od. engl. Nucleic acid amplification tests)

RNK - Ribonukleinska kiselina

RT-qPCR - kvantitativni test lančane reakcije polimerazom postupkom obrnute transkriptaze (od engl. Reverse transcriptase-quantitative polymerase chain reaction)

SARS - CoV-2- Teški akutni respiratorni sindrom koronavirus 2 (od engl. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2)

WHO - Svjetska zdravstvena organizacija SZO (od engl. World Health Organization)

ZZJZIŽ - Zavod za javno zdravstvo Istarske županije

1. Uvod

Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) je COVID-19 bolest proglasila pandemijom 11. ožujka 2020. Pandemija se proširila zbog ubrzanog širenja novog virusa SARS-CoV-2 (aerosolnim putem s čovjeka na čovjeka, bliski kontakt s oboljelim osobom i fekalno-oralnim putem) u populaciji bez antitijela na novi virus. Znanstvena istraživanja pokazuju da je širenje aerosolnim putem najvirulentniji način prijenosa bolesti među ljudima i zbog toga danas u svijetu imamo veliki broj oboljelih kao i velik broj ljudi koji su preboljeli ili umrli. Od početka pandemije postoji visoka stopa zaraznosti zbog slobodne cirkulacije neprepoznatih zaraznih slučajeva među ljudima (Casella, 2021).

Higijena ruku, dezinfekcija površina, fizička distanca i korištenje maski, optimalan su način sprječavanja prijenosa bolesti (MacIntyre, 2020).

Radi brzog širenja bolesti, pojavila se potreba za brzom i pouzdanom dijagnostikom. Zahvaljujući poznavanju cijelog genoma virusa SARS-CoV-2 virusa vrlo su brzo proizvedeni testovi amplifikacije nukleinskih kiselina (engl. „nucleic acid amplification tests“, NAAT) od kojih se najviše koristi RT-qPCR (engl. reverse transcriptase-quantitative polymerase chain reaction“) kao zlatni standard dijagnostike COVID-19 bolesti. Kasnije su se pojavili brzi antigenski testovi (BAT) koji se koriste za probir u populaciji. RT-qPCR i BAT testovi spadaju u skupinu izravnih testova i predstavljaju temelj dijagnostike COVID-19.

Postoje i tzv. neizravni testovi koji detektiraju antitijela domaćina te ovisno o klasi imunoglobulina (IgM i IgG) definiraju da li se radi o aktivnoj ili prošloj infekciji (Jacofsky, 2020).

2. Obrada teme

2.1. Povijest COVID - 19 bolesti

Bolest COVID-19 smatra se petom pandemijom od posljednje velike pandemije gripe 1918. godine. COVID-19 bolest je prvi put otkrivena u Kini, u gradu Wuhanu gdje živi 11 milijuna stanovnika te se kasnije proširila svijetom i uzrokovala velike zdravstvene posljedice na čovječanstvo (Liu, 2020).

Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) je 31. prosinca 2019. obaviještena od strane kineske vlade o grupiranju pneumonija uzrokovanih novim koronavirusom SARS-CoV-2 te zbog razvijanja kliničke slike bolest proglasila teškim akutnim respiratornim sindromom (She, 2020).

Smatra se da virus SARS-CoV-2 potječe od životinja (najvjerojatnije od šišmiša), te je transmisijom na druge vrste (Pangolin, zmijske, kornjače) prešao na ljude na tržnici Huanan, gdje se prodaju žive životinje, u gradu Wuhanu (Santos, 2020).

2.2. Etiologija

SARS-CoV-2 pripada porodici Coronaviridae. Porodica se sastoji od 4 podgrupe: alpha, beta, gamma i delta. SARS-CoV-2 spada u beta-coronavirus isto kao i SARS-CoV i MERS virusi koji također uzrokuju teške akutne respiratorne sindrome (Pal, 2020).

Virus SARS-CoV-2 je ovijeni virus (promjer 65-125 nm) koji pod elektronskim mikroskopom izgleda kao da je ovijen krunom. Sadrži jednolančanu RNK (ribonukleinska kiselina) i četiri strukturalna proteina (spike - S, membrane - M, envelope - E i nukleokapsid - N). S protein se dijeli u dvije podjedinice: S1 i S2, S1 protein je odgovoran za vezanje na receptor angiotenzin konvertirajućeg enzima 2 (ACE2) što posreduje fuziji između virusne ovojnice i stanične membrane domaćina i olakšavanje ulaska virusa u stanice domaćina (Song, 2019).

2.3. Klinička slika

Klinička slika COVID-19 bolesti varira brojnim simptomima, a klinička slika je kod svakog pacijenta individualna. Simptomi koji se najčešće javljaju :

- povišena tjelesna temperatura
- zimica
- kašalj (tuisis)
- otežano disanje (dispneja)
- otežani kratki udisaji
- umor
- bolovi u mišićima (mialgija)
- glavobolja
- gubitak okusa (ageuzija)
- gubitak mirisa (anozmija)
- curenje iz nosa (rinoreja)
- grlobolja
- upala pluća (pneumonija)
- mučnina
- povraćanje
- proljev
- makulopapulozni osip
- lezije na prstima (Hassan, 2020).

Starije odrasle osobe i osobe s pridruženim medicinskim komorbiditetima mogu imati izrazito povišenu temperaturu i respiratorne simptome za razliku od mlađih osoba ili osoba koje nemaju komorbiditete. U studiji koja je provedena među hospitaliziranim pacijentima, groznica je bila prisutna u 44% pacijenata, a 89% pacijenata imalo je povišenu tjelesnu temperaturu. Umor, glavobolja i bolovi u mišićima (mialgija) su najčešće prijavljivani simptomi kod ljudi koji nisu hospitalizirani, a bolno grlo i nazalna kongestija ili curenje iz nosa (rinoreja) bili su također češći simptomi u ovoj grupi. Gastrointestinalni simptomi poput mučnine, povraćanja i proljeva pojavili su se i prije febriliteta i simptoma donjeg dišnog sustava. Gubitak mirisa (anosmija) ili okusa (ageuzija) pojavilo se u 1/3 slučajeva, posebno među ženama mlađe i srednje dobi (Ho, 2020).

Od kožnih promjena primijećeni su: makulopapulozni osip (22%), obojene lezije prstiju (18%) (Jamshidi, 2021).

Bolest COVID-19 može biti i asimptomatska, prevalencija asimptomatske infekcije i otkrivanje presimptomatske infekcije još nije u potpunosti shvaćena. Podatci temeljeni na RT-qPCR testiranju za SARS-CoV-2 ukazuju na to da su asimptomatske infekcije češće i da je zbog toga ukupan broj infekcija veći od broja prijavljenih slučajeva (Alimohamadi, 2020).

2.4. Dijagnostika

2.4.1. Uzorci za testiranje

Nazofaringealni ili orofaringealni bris su osnovni uzorci za dijagnostiku COVID-19 bolesti (HZJZ, 2020).

U hospitaliziranih bolesnika uzimaju se uzorci iz donjih dišnih putova (sputum, aspirat traheje i bronhoalveolarni lavat), dokazano je pokazuju veću osjetljivost od uzorka iz gornjeg dišnih putova (HDKM, 2020).

U iznimnim slučajevima uzimaju se uzorci iz drugih izlučevina (krv, stolica) ali prisutnost virusa izvan dišnog sustava se još uvijek istražuje i nije preporučljivo uzimanje tih uzoraka u dijagnostici.

Kod umrlih, u slučaju obdukcije uzimaju se uzorci plućnog tkiva.

Uzorci se dopremaju u laboratorij čim prije nakon uzorkovanja. Uzorak se stavlja u transportni medij (2 ml Hanks otopine ili fiziološke otopine). Uzorci se pohranjuju u hladnjak na 2-8 °C, treba ih dostaviti u laboratorij unutar 24 sata. U slučaju duže pohrane uzorke spremamo na -70 °C (HDKM, 2020).

2.4.2. RT-qPCR – kvantitativni test lančane reakcije polimerazom postupkom obrnute transkriptaze

RT-qPCR (od engl. reverse transcriptase - quantitative polymerase chain reaction) je PCR u realnom vremenu. To je amplifikacijska tehnika u kojoj se amplifikacija ciljne nukleinske kiseline i detekcija amplifikata događaju istovremeno. Primeri su obilježeni fluorescentnom bojom koja se oslobađa u trenutku kada se primer spoji s ciljnom nukleinskom kiselinom. Aparat bilježi svako pojedino spajanje i tako nastaje krivulja reakcije amplifikacije tražene nukleinske kiseline. Ta se krivulja uspoređuje sa standardnom krivuljom amplifikacije poznate količine ciljne nukleinske kiseline i tako se može ustanoviti koncentracija tražene ciljne nukleinske kiseline, stoga je PCR u realnom vremenu kvantitativna pretraga. Velika dodatna prednost ove metode je u tome, što se produkt amplifikacije ne premješta kako bi detektirao, nego se detektira u istom postupku. Stoga je mogućnost kontaminacije uzorka bitno smanjena (Kalenić, 2019).

U dijagnostici COVID-19 bolesti RT-qPCR test dokazuje gen RdRP (gen RNA-ovisne RNK polimeraze), E gen (gen ovojnice proteina), N gen (gen proteina nukleokapside) i S gena (gen šiljka virusa), svi ovi geni kodiraju proteine stanice domaćina (Cho, 2020).

U područjima u kojima SARS-CoV-2 nije jako rasprostranjen u populaciji, prvi rezultati koji su pozitivni, dokazuju se pozitivnim nalazom najmanje dvaju virusnih gena od kojih jedan mora biti specifičan za SARS-CoV-2 virus. Kod sumnjivih rezultata uzorak za testiranje se ponavlja i potrebno je ponoviti i prema potrebi zatražiti retestiranje u laboratoriju (CDC, 2021).

Tamo gdje je SARS-CoV-2 virus vrlo raširen, nalaz se smatra pozitivnim nakon dokazanog jednog ciljnog gena (Wang, 2020)

Negativni nalazi ne isključuju COVID-19 bolest. Uzeti uzorci zbog kojeg nalaz može biti lažno negativan su: loša kvaliteta uzorkovanja uzorka, uzimanje uzorka prerano ili prekasno tijekom bolesti, nepravilno pohranjivanje i nepravilan transport i greške u uzorkovanju testa (Lin, 2020).

Ukoliko bris iz gornjeg dišnog puta dođe negativan, a postoji velika sumnja na COVID-19 bolest, test se ponavlja uzimanjem uzorka iz donjeg dišnog puta (HDKM, 2020).

2.4.3. Brzi antigenski testovi (BAT)

U cilju bržeg otkrivanja i izolacije oboljelih i obrade njihovih kontakata brzi antigen-ski test (BAT) omogućuje veću dostupnost u testiranju i bržu dijagnostiku u uvje-tima kada je kapacitet PCR testa preopterećen u dijagnostici COVID-19 bolesti (HZJZ, 2020)

BAT testovi se koriste unutar pet dana od samog početka bolesti. Pozitivna pre-diktivna vrijednost BAT-a je visoka u situaciji velike rasprostranjenosti virusa u po-pulaciji s vjerojatnošću da će osoba biti pozitivna i zaista bolesna (HZJZ, 2020)

U vrijeme visoke incidencije COVID-19 bolesti pozitivni rezultati testa smatraju se relevantnim za potvrdu same bolesti. Kada je negativan rezultat BAT-a, tada se test ponovo provjerava.. Provjerava se nakon dva dana BAT-om ili RT-qPCR tes-tom neposredno nakon negativnog nalaza BAT-a. Do dolaska rezultata ponovlje-nog brzog testa ili PCR testa osobu treba tretirati kao vjerojatnog COVID-19 bole-snika (HZJZ, 2020).

Brzi antigenski testovi su jeftiniji i jednostavniji za uporabu, sastoji se od testnih komplemenata. Brže otkrivaju COVID-19 bolest među visokorizičnim skupinama gdje je fluktuacija ljudi veća. Osjetljivost BAT-a kreće se od 0% do 96%. Ako se pravilno ne uzme uzorak dobiva se lažno negativan nalaz, te je preporučljivo da se uradi RT-qPCR test.

Brzi antigenski testovi spadaju u POC testove (engl. "point of care") tj. test na mjestu skrbi, a većinu čine imunokromatografski testovi u kazeti.

Svi proizvođači BAT-ova u svojim pakiranjima nude sve što je potrebno za ovaj test:

- testne kazete
- pufer
- epruvete za ekstrakciju i čep
- pozitivnu i negativnu kontrolu
- štapiće za uzorkovanje
- stalak za epruvete
- vodič i upute za uporabu (Abbott, 2021)



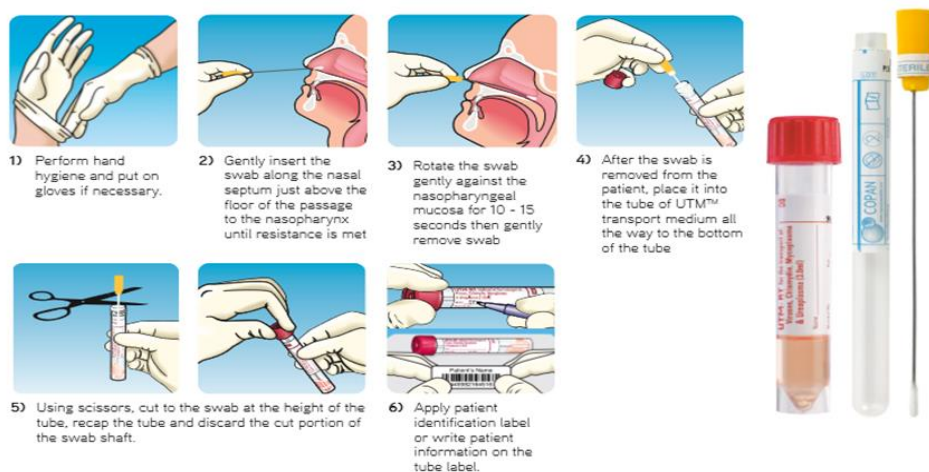
Slika 1. Testna kazeta za brzo antigensko testiranje COVID-19 bolesti (Panbio, proizvođač Abbott)

Princip izrade testa je sličan za sve BAT- ove:

- prije testiranja komponente seta za testiranje ostaviti na sobnoj temperaturi 30 minuta (slika 1.)

- izvaditi testnu kazetu iz folije i postaviti na ravnu, čistu podlogu
- uliti pufer u epruvetu (količina prema uputi) te postaviti epruvetu u stalak
- uzeti bris kojim je dobiven uzorak
- promiješati ga u epruvetu s pripremljenim puferom te po potrebi vorteksirati ili gnječiti bris kako bi se što veća količina antigena suspendirala u puferu
- prelomiti štapić na označenom mjestu ostavivši vrh u epruveti i zatvoriti epruvetu čepom
- epruvetu otvoriti na predviđeno mjesto i ukapati nekoliko kapi u predviđeni otvor u kazeti
- očitavanje rezultata uobičajeno je u rasponu vremena 15-20 minuta
- sav upotrijebljeni materijal odbaciti u biološki otpad (Siemens, 2021).

NASOPHARYNGEAL POLYESTER SWABS AND UTM™ HOW TO GUIDE



Slika 2. Prikaz pravilnog uzimanja brisa i pohrana uzorka na SARS-CoV-2 virus

2.5. Uloga medicinske sestre u uzorkovanju briseva za dijagnostiku Covid-19 bolesti

Najčešći uzorci u dijagnostici COVID-19 bolesti su uzorci gornjeg respiratornog trakta, a pravilno uzorkovanje i pohrana brisa nazofarinksa i/ili orofarinksa temelj je dobre dijagnostike i pouzdanosti rezultata. Medicinska sestra ima ključnu ulogu u pravilnom uzimanju uzoraka te se pritom susreće sa specifičnim zadacima: samozaštita prilikom uzimanja uzorka, pravilno uzorkovanje (ovisno o vrsti materijala) te rukovanje s infektivnim materijalom i pohrana istoga (Shrehsta, 2020).

2.6. Samozaštita medicinskih sestara

Medicinske sestre koje prikupljaju uzorke ili provode postupke vezane uz COVID pozitivne ili suspektne pacijente pri kojima se proizvodi aerosol moraju koristiti respirator maske FFP2 i KN95 sa 95% zaštite od aerosolnih čestica i FFP3 maska sa 99% zaštite od aerosolnih čestica, zaštitne naočale ili vizir, rukavice i mantil (CDC, 2021).

Medicinske sestre i zdravstveni djelatnici koji nisu izravno uključeni u prikupljanje uzoraka ili u postupke pri kojima se stvara aerosol, trebaju slijediti standardne mjere zaštite, a to uključuje nošenje kirurške maske tijekom cijelog vremena rada u zdravstvenoj ustanovi (CDC, 2021).

Prilikom prikupljanja uzoraka bitno je slijediti odgovarajuće respiratorne i kontaktne mjere prevencije. Ako je moguće, potrebno je stavljati i skidati osobnu zaštitnu opremu u prisustvu promatrača kako bi se osiguralo da nema prekida u kontinuitetu tehnike što može predstavljati opasnost od kontaminacije (CDC, 2021).

Najprije se stavlja zaštitni mantil, nakon čega se ruke operu ili dezinficiraju te se stavljaju čiste rukavice. Zatim se stavlja zaštitna maska s filterom N95 ili više. Na kraju se stavlja zaštita za lice i oči (Marty, 2020).

Važno je poštovati i redosljed skidanja zaštitne opreme. Najprije se skida mantil i rukavice te se ruke operu ili dezinficiraju. Nakon toga, stavlja se novi par rukavice i skida štitnik za lice koji se odlaže u otpad ili očisti i zbrine. Potrebno je ponovno skinuti rukavice i dezinficirati ruke te navući novi par rukavica. Novim parom rukavica skida se maska koja se također ili odlaže u otpad ili odlaže za ponovnu upotrebu. Na kraju se skida posljednji par rukavica i ruke ponovno dezinficiraju (Marty, 2020).

2.7. Postupak uzimanja uzoraka

SARS-CoV-2 dijagnosticira se uzimanjem uzoraka iz respiratornog sustava. Uzorak je moguće uzeti iz gornjeg ili donjeg dijela respiratornog trakta, najbolji uzorak je bris nazofaringealne sluznice. Za uzorkovanje sluznice nazofarinksa koriste se samo brisevi od sintetičkih vlakana s tankom plastičnom ili žičanom osovinom. Kontraindicirano je koristiti briseve koji sadrže kalcijev alginat ili briseve s drvenom osovinom jer mogu sadržavati tvari koje inaktiviraju viruse i inhibiraju molekularne testove (See, 2020).

Ako se prikupe uzorci nazofarinksa i orofarinksa poželjno ih je kombinirati u jednu epruvetu kako bi se povećala osjetljivost testa i ograničila upotreba resursa za testiranje. Za uzimanje uzoraka gornjih dišnih putova treba koristiti sterilne briseve. To je važno kako bi se osigurala sigurnost pacijenata i očuvao integritet uzorka. U pacijenata koji razviju produktivan kašalj, moguće je prikupiti i testirati sputum na SARS-CoV-2. Međutim, indukcija sputuma ne preporučuje se zbog mogućnosti stvaranja aerosola tijekom postupka. Pod određenim kliničkim okolnostima (npr. pacijenata koji su na mehaničkoj ventilaciji), može se prikupiti uzorak aspirata donjeg respiratornog trakta ili bronhoalveolarni lavat kao uzorak donjih dišnih putova. Respiratorni uzorci trebaju biti prikupljeni što prije nakon postavljanja sumnje na zarazu, bez obzira na početak simptoma. Pravilno uzorkovanje najvažniji je korak u laboratorijskoj dijagnostici zaraznih bolesti. Uzorak koji nije pravilno prikupljen može dovesti do lažnih ili neuvjerljivih rezultata ispitivanja (See, 2020).

2.8. Tehnike prikupljanja uzoraka za COVID - 19 testiranje

2.8.1. Gornji respiratorni trakt

- Prikupljanje nazofaringealnog uzorka
- zamoliti pacijenta da skinе masku i ispuše nos u maramicu kako bi očistili višak sekreta iz nosnih prolaza
- zabaciti glavu pacijenta za 70 stupnjeva kako bi nosni prolazi bili pristupačniji
- uputiti pacijenta da zatvori oči kako bi smanjili nelagodu
- nježno umetnuti bris uz nosni septum, neposredno iznad baze nosnog prolaza, do nazofarinksa, sve dok se ne osjeti otpor
- umetnuti bris u nosnicu, paralelno s nepcem. Ako se pojavi otpor prolasku brisa, odmaknuti se i pokušati ga ponovno umetnuti pod drugim kutom, bliže dnu nosnog kanala. Obrisak bi trebao doseći dubinu jednaku udaljenosti od nosnica do vanjskog otvora uha
- preporučuje se bris ostaviti na mjestu nekoliko sekundi da upije sekrete a zatim polako ukloniti bris rotirajući ga. Uzorci se mogu prikupiti s obje strane pomoću istog brisa, ali nije potrebno prikupljati uzorke s obje strane ako je vršak zasićen tekućinom iz prvog prikupljanja
- kod devijacije septuma ili začepljenosti nosnice otežava se dobivanje uzorka iz spomenute nosnice upotrijebite isti bris za uzorkovanje iz druge nosnice
- zamoliti pacijenta da ponovno stavi masku
- otvoriti epruvetu i umetnite bris unutra. Prelomiti štapić na označenom mjestu i potrebno je uroniti u medij i odložiti preostali dio. Zatvoriti označenu epruvetu i obrišite je maramicom za dezinfekciju površina.
- epruvetu pohraniti u vrećicu za biološki opasan otpad te pospremite u hladnjak na 4°C do transporta (CDC, 2021).

- Prikupljanje orofaringealnog uzorka
- umetnuti bris u stražnje ždrijelo i krajnike
- utrljati bris oba stupa tonzila i stražnjeg orofarinksa izbjegavajući dodirivanje jezika, zuba i desni
- staviti bris vrhom prema dolje (kako bi bio uronjen u medij) u epruvetu i zatvoriti

Nazofaringealni lavat/aspirat ili nazalni lavat/aspirat

- pričvrstiti kateter na aspirater
- ukapati 1 do 1,5 ml nebakteriostatske fiziološke otopine u jednu nosnicu
- umetnuti cijev u nosnicu paralelno s nepcem (ne prema gore). Kateter bi trebao doseći dubinu jednaku udaljenosti od nosnica do vanjskog otvora uha
- početi s blagom aspiracijom i uklonite kateter lagano rotirajućim pokretom
- uzorak staviti u sterilnu epruvetu za prijenos virusa (CDC, 2021).

2.8.2. Donji respiratorni trakt

- Sputum
 - za pacijente kod kojih se razvije produktivan kašalj, sputum se može prikupiti i testirati, međutim ne preporučuje se indukcija sputuma
 - potrebno je pacijenta podučiti o razlici između sputuma i oralnog sekreta
 - pacijenta podučiti da ispere usta vodom, a zatim iskašlje sputum dubokog kašlja izravno u sterilnu posudu za prikupljanje s navojnim čepom koji ne propušta tekućinu ili sterilnu suhu posudu (CDC, 2021).

- Bronhoalveolarni lavat
 - pomoću bronhoskopa prikupiti 2 do 3 ml u sterilnu posudu za skupljanje sputuma sa zatvaračem koji ne propušta vodu

Biopsat pluća

- prikupljanje uzoraka ovog tipa može biti ograničeno samo na pacijente s težim oblicima bolesti ili kod kadavera

2.9. Rukovanje i pohrana uzoraka

Nakon uzimanja uzoraka, epruvete je potrebno staviti u vrećicu s patentnim zatvaračem. U vrećicu staviti staničevinu ili neki drugi upijajući materijal te epruvete položiti na isti. Pritom paziti na uspravan položaj epruveta te da je vrećica dobro zatvorena. Nakon zatvaranja vrećicu treba s vanjske strana prebrisati alkoholom (ili nekim drugim dezinficijensom). Nakon toga skinuti rukavice i vrećicu staviti u posudu s navojem i to na staničevinu kao što je prethodno učinjeno s epruvetama. Ako nije dostupna posuda s navojem onda je vrećicu potrebno staviti u drugu vrećicu s patentnim zatvaračem, također na staničevinu. Posudu ili vrećicu zatim odložiti u prijenosni hladnjak u uspravnom položaju. Do transportiranja u laboratorij potrebno je uzorke čuvati u hladnjaku na temperaturi od 4°C. Uz uzorke je potrebno dostaviti uputnicu u zasebnoj vrećici (NZJZ, 2020).

3. Cilj istraživanja

Cilj istraživanja je prikupiti i analizirati podatke pacijenata koji su testirani BATom i RT- qPCR na COVID -19 bolest u razdoblju od 11.12.2020. do 05.02.2021 na Odjelu infektologije OB Pula te usporediti rezultate dobivene ovim dvjema metodama.

Provjeriti pouzdanost BAT-a u cilju brzog probira pacijenata oboljelih od COVID-19 bolesti, te odrediti njegovu negativnu prediktivnu vrijednost.

4. Materijali i metode

Istraživanje je provedeno na uzorku od 298 pacijenata. Svi pacijenti upućeni su na Odjel infektologije Opće bolnice Pula u razdoblju od 11.12.2020. do 05.02.2021. u vrijeme visoke incidencije COVID-19 bolesti u Istarskoj županiji.

Svim pacijentima iz navedenog uzorka postavljena je klinička sumnja na bolest COVID-19 te im je uzet bris nazofarinksa radi testiranja brzim antigenskim testom u mikrobiološkom laboratoriju Odjela za infektologiju Opće bolnice Pula. Korišten je test Panbio COVID -19 Antigen Test, proizvođača Abbot.

Ukupno 141 pacijenata čiji je rezultat na BAT-u bio negativan, uzorkovani su ponovno, te je njihov bris nazofarinksa poslan na testiranje metodom RT- qPCR u laboratorij za molekularnu dijagnostiku Zavoda za javno zdravstvo Istarske županije prema važećim smjernicama (proizvođač testova nepoznat).

Podatci u ovom istraživanju prikupljeni su iz BIS-a (Bolnički informatički sustav - arhiva nalaza) Opće bolnice Pula.

Istraživanje je provedeno retrospektivnom analizom medicinske dokumentacije iz bolničke arhive Odjela za infektologiju - Opće bolnice Pula

Za provođenje istraživačkog rada u svrhu izradbe završnog rada zatražena je suglasnost od Etičkog povjerenstva Opće bolnice Pula. Etičko povjerenstvo je na sjednici održanoj 5. srpnja 2021 godine dalo suglasnost (Klasa: 641-01-21-01/01, Ur. Br: 2163/01-59-79-19/1-21-37) i omogućilo pristup potrebnim podacima Odjela za Infektologiju u čijoj je nadležnosti praćenje i kontrola COVID-19 bolesti.

5. Rezultati

U slijedećim tablicama prikazani su demografski podatci testiranih pacijenata.

Tablica 1. Broj i postotak pacijenata prema spolu testiranih na COVID-19 bolest brzim antigenskim testom na Odjelu infektologije OB Pula (11.12.2020.-05.02.2021.)

PACIJENTI PREMA SPOLU	
SPOL	UKUPNO
M	145
(%)	(49)
Ž	153
(%)	(51)
Σ	298
(%)	(100)

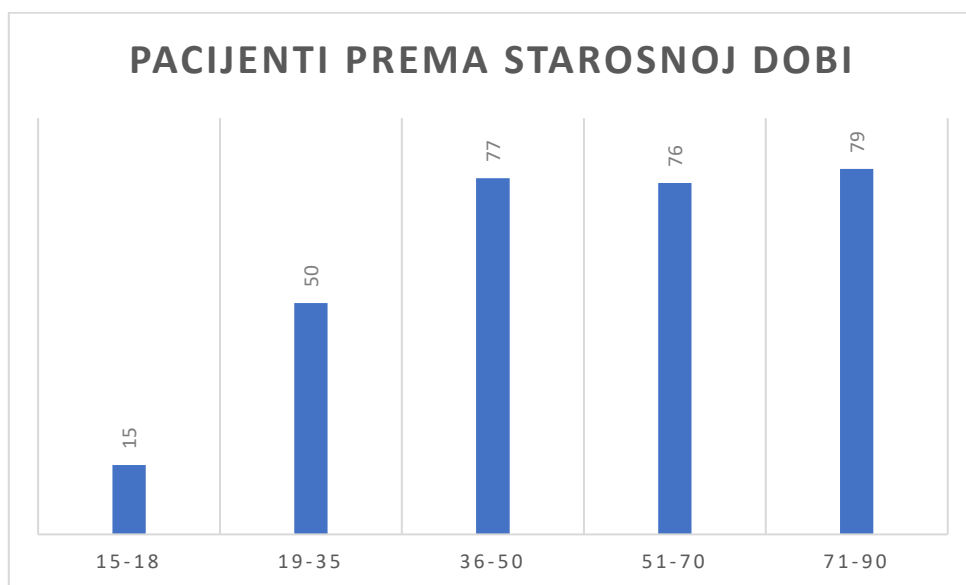


Grafikon 1. Postotak pacijenata prema spolu testiranih na COVID-19 bolest brzim antigenskim testom na Odjelu infektologije OB Pula (11.12.2020.- 05.02.2021.)

Analizom prikupljenih podataka u tablici 1. i grafikonu 1. možemo vidjeti da je od ukupno 298 pacijenata koji su testirani brzim antigenskim testom, 153 (51%) ženskog spola, a 145 (49%) muškog spola.

Tablica 2. Broj i postotak pacijenata prema starosnoj dobi testiranih na COVID-19 bolest brzim antigenim testom na Odjelu infektologije OB Pula (11.12.2020.-05.02.2021.)

PACIJENTI PREMA STAROSNOJ DOBI	
GODINA	UKUPNO
15-18 (%)	15 (5)
19-35 (%)	50 (16,8)
36-50 (%)	77 (25,9)
51-70 (%)	76 (25,5)
71-90 (%)	79 (26,5)
Σ (%)	298 (100)

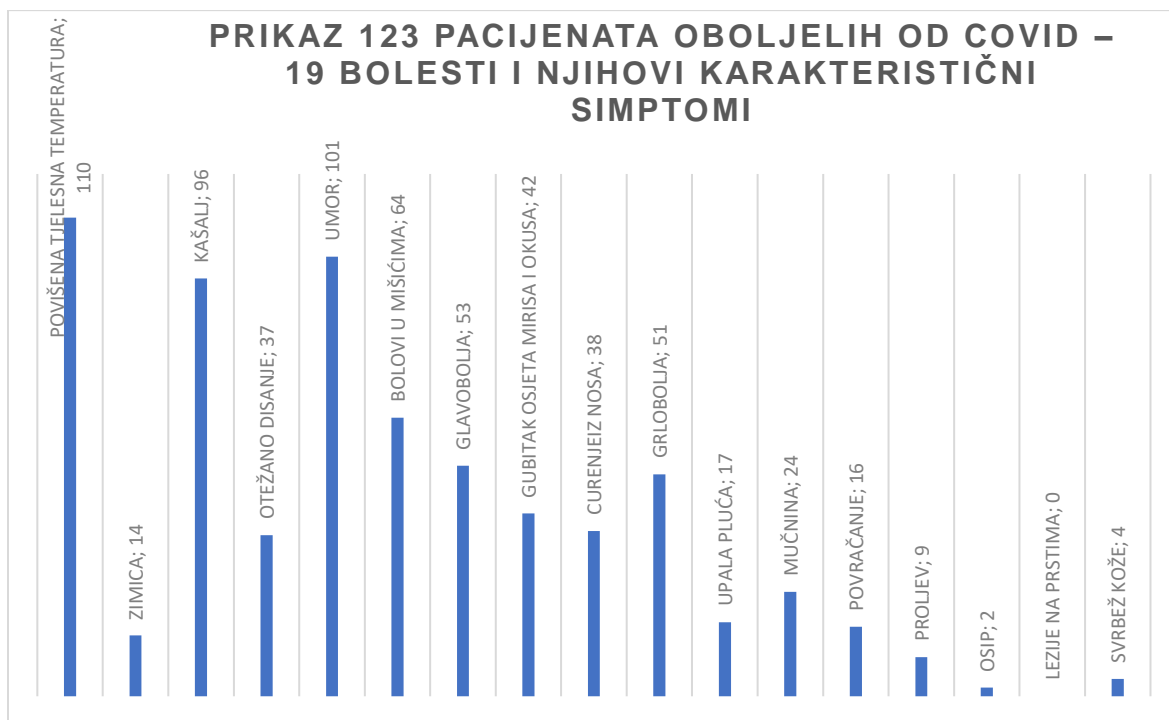


Grafikon 2. Broj i postotak pacijenata prema starosnoj dobi testiranih na COVID-19 bolest brzim antigenskim testom na Odjelu infektologije OB Pula (11.12.2020.-05.02.2021.)

Analizom prikupljenih podataka u tablici 2. i grafikonu 2. možemo vidjeti da najveći broj pacijenata, njih 79 (26,5%) pripada skupini starosne dobi od 71-90 godine, dok je najmanje, njih 15 (5%) starosne dobi od 15-18 godine.

Tablica 3. Vrste i učestalost simptoma kod pacijenata testiranih na COVID-19 bolest brzim antigenskim testom na Odjelu infektologije OB Pula (11.12.2020.-05.02.2021.)

	VRSTE SIMPTOMA	BROJ PACIJENATA (%)
Prikaz 123 pacijenata oboljelih od COVID- 19 bolesti i njihovi karakteristični simptomi	POVIŠENA TJELESNA TEMPERATURA	110 (89,4)
	ZIMICA	14 (11,3)
	KAŠALJ	96 (78)
	OTEŽANO DISANJE	37 (30)
	UMOR	101 (82)
	BOLOVI U MIŠIĆIMA	64 (52)
	GLAVOBOLJA	53 (43)
	GUBITAK OSJETA MIRISA I OKUSA	42 (34,1)
	CURENJE IZ NOSA	38 (30,8%)
	GRLOBOLJA	51 (41,4)
	UPALA PLUĆA	17 (13,8)
	MUČNINA	24 (19,5)
	POVRAĆANJE	16 (13)
	PROLJEV	9 (7,3)
	OSIP	2 (1,6)
	LEZIJE NA PRSTIMA	0 (0)
	SVRBEŽ KOŽE	4 (3,2)

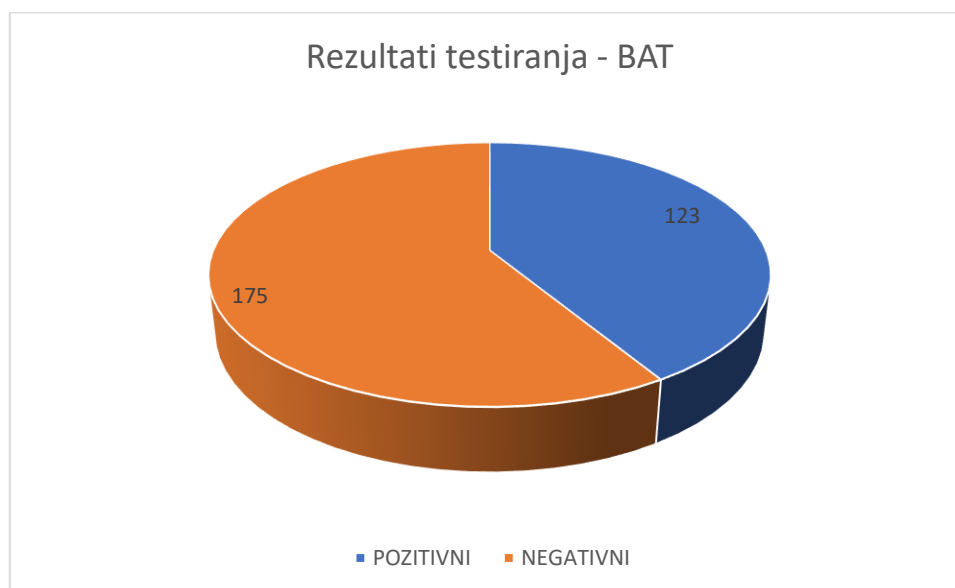


Grafikon 3. Vrste i učestalost simptoma kod pacijenata testiranih na COVID-19 bolest brzim antigenim testom na Odjelu infektologije OB Pula (11.12.2020.-05.02.2021.)

U tablici 3. i grafikonu 3. analizom prikupljenih podataka može se vidjeti da je 110 pacijenata imalo povišenu tjelesnu temperaturu, umor je bio prisutan kod 101 pacijenta, kašalj kod 96 pacijenata, bolovi u mišićima kod 64 pacijenata. Manji broj pacijenata imalo je gastrointestinalne probleme: mučnina kod 24 pacijenta, povraćanje kod 16 pacijenata i proljev kod 9 pacijenata. Najmanje je bilo kožnih promjena u vidu osipa kod 2 pacijenta i svrbež kože kod 4 pacijenta.

Tablica 4. Rezultati testiranja na SARS-CoV-2 brzim antigenskim testom na Odjelu infektologije OB Pula (11.12.2020.- 05.02.2021.)

REZULTATI TESTIRANJA - BRZI ANTIGENSKI TEST (BAT)		
UKUPNO	POZITIVNI	NEGATIVNI
298	123	175
(100%)	(41,2%)	(58,7%)



Grafikon 4. Rezultati testiranja na SARS-CoV-2 brzim antigenskim testom na Odjelu infektologije OB Pula (11.12.2020.- 05.02.2021.)

Analizom podataka u tablici 4. i grafikonu 4. možemo vidjeti da je ukupno 298 pacijenata testirano BAT-om te da je njih 123 (41,2%) rezultiralo pozitivnim testom, a 175 (58,7%) negativnim.

Tablica 5. Rezultati testiranja na SARS-CoV-2 metodom RT-qPCR u ZZJZ IŽ (11.12.2020.- 05.02.2021.)

REZULTATI TESTIRANJA - RT-qPCR		
UKUPNO	NEGATIVNI	POZITIVNI
141	136	5
(100%)	(96,4%)	(3,6%)



Grafikon 5. Rezultati testiranja na SARS-CoV-2 metodom RT-qPCR u ZZJZ IŽ (11.12.2020.- 05.02.2021.)

U tablici 4. i grafikonu 4 . može se vidjeti da je ukupno 175 pacijenata imalo negativni rezultat metodom brzog antigenskog testa, a u tablici 5. i grafikonu 5. vidljivo je da nisu svi negativni rezultati provjereni RT-qPCR testom već samo 141 uzorak. U istoj tablici i grafikonu vidljivo je da je od ukupno 141 testiranih uzoraka, njih 136 potvrđeno negativnim (96,4%), a 5 je uzoraka pozitivno (3,6%).

S obzirom da je RT-qPCR „zlatni standard“ u dijagnostici COVID-19 bolesti, interpretacijom podataka pacijenti su podijeljeni u slijedeće kategorije: SN (stvarno negativni) -136 pacijenata i LN (lažno negativni) -5 pacijenata. Iz dobivenih rezultata moguće je izračunati negativnu prediktivnu vrijednost korištenog brzog antigenskog testa slijedećom formulom:

$NPV = \frac{SN}{SN+LN}$ (Mavrinac, 2013).

$NPV = \frac{136}{136+5} = \frac{136}{141} = 0,96 = 96\%$

Negativna prediktivna vrijednost brzog antigenskog testa, koji je korišten radi probira COVID pacijenata, na Odjelu infektologije OB Pula u razdoblju od 11.12.2020.- 05.02.2021., iznosi 96%, što ga čini dobrim testom za probir pacijenata koji su negativni na COVID 19 bolest.

6. Rasprava

U razdoblju od 11.12.2020. do 05.02.2021. na Odjelu infektologije OB Pula pregledano je 298 pacijenata. Rezultati ovog istraživanja pokazali su da je od 298 pacijenata bilo 153 ženskih i 145 muških pacijenata. U znanstvenom istraživanju provedeno u Kini pridodana je velika važnost muškom spolu kao većem rizičnom čimbeniku za obolijevanje od COVID-19 bolesti (Bwire, 2020). Prijavljeni epidemiološki podatci prikupljeni u različitim dijelovima svijeta ukazuju na veći broj oboljelih i umrlih muškaraca od žena od COVID-19 bolesti zbog veće ekspresije ACE-2 (receptor za koronavirus) u muškaraca nego u žena, koja uzrokuje lošiji imunološki odgovor (Bwire, 2020). Muškarci su skloniji većoj konzumaciji alkohola i pušenja cigareta u odnosu na žene (Sun, 2020). U istraživanju je bilo uključeno više žena nego muškaraca.

Analizom prikupljenih podataka u tablici 2. i grafikonu 2. možemo vidjeti da najveći broj pacijenata, njih 79 (26,5%) pripada skupini starosne dobi od 71-90 godine, dok je najmanje, njih 15 (5%) starosne dobi od 15-18 godine.

Starije osobe predstavljaju specifičnu grupu visokorizičnih pacijenata za obolijevanje od COVID-19 bolesti s težom kliničkom slikom i pogoršanjem. Kod starijih osoba imunološki sustav je slabiji zbog mnogobrojnih komorbiditeta koji će potaknuti veću i jaču citokinsku oluju uzrokovana SARS-CoV-2 virusom što uzrokuje ARDS. Starost je povezana s lošijim ishodom od bolesti zbog patofizioloških promjena dišnog sustava. Stariji pacijenti oboljeli od COVID-19 bolesti u 80% slučajeva pokazuju veći rizik od smrti u usporedbi s mlađim pacijentima (Report, 2020). U bolnici Hainan (Kina) provedena je studija u kojoj su se analizirali i usporedili simptomi kod starijih i mlađih pacijenta. Najčešći simptomi kod jednih i drugih bili su: povišena tjelesna temperatura, kašalj, ispljuvak, curenje iz nosa, glavobolja i proljev. Kod starijih pacijenata u 75% češće se razvijala pneumonija nego kod mlađih pacijenata. Stariji pacijenti su se više žalili na otežano i ubrzano disanje, dok kod mlađih pacijenata najčešći simptomi su bili glavobolja, povišena tjelesna temperatura i gastroenterološki poremećaji poput mučnine, povraćanja i proljeva (Liu, 2020).

U bolničkom istraživanju Sakarya University Training and Research Hospital ispitani su COVID-19 pacijenti s obzirom na simptome. Najčešći simptomi su bili: kašalj (56,6%), slabost (56,6%), poremećaj okusa (35,7%), mialgija (34,3%) i vrućica (33,6%); a u negativnoj skupini COVID-19: kašalj (63%), slabost (45,5%), dispneja (29,9%), glavobolja (27,3%) i vrućica (24,7%). Istraživanje je pokazalo da su poremećaji okusa i mirisa te proljev važni pokazatelji infekcije COVID-19 (Calica, 2020). U istraživanju ovog završnog rada analizom podataka došli smo do rezultata da su pacijenti najčešće imali slijedeće simptome: povišena tjelesna temperatura (89,4%), kašalj (78%), umor (82%), mialgija (52%), gubitak osjeta mirisa i okusa (34,1%).

U istraživanju je sudjelovalo je 298 ispitanika, testirani su BAT-om, od toga je bilo 123 (41,2%) pozitivnih ispitanika i 175 (58,7%) negativnih ispitanika. Dobiveni podatci u završnom radu koje je provedeno nakon negativnog BAT-a urađen je kontrolni RT-qPCR - test kod 141 ispitanika, od toga bilo je 136 negativnih ispitanika (96,4%) i 5 (3,6%) pozitivnih ispitanika. Za mikrobiološku analizu RT- qPCR testa koristi se laboratorij i sofisticirana oprema. Nalaz se čeka 5-6 sati. Nedostatci ovog testa su to što može pokazati da li je osoba u ovom trenutku zaražena, ako se uzme previše rano, a osoba je zaražena daje negativan nalaz.

Mnogobrojna istraživanja kako domaća tako i strana potvrđuju da osim RT-qPCR testiranja, BAT omogućuje brzo testiranje u okruženju pacijenata bržu procjenu i odluku treba li pacijente staviti u izolaciju, smanjujući rizik od daljnjeg širenja infekcije. Omogućuje decentralizirano testiranje na mjestu i pomaže u proširivanju raspona i količine izravnog testiranja virusa na inače nedostupna mjesta. BAT test se sastoji od testnog kompleta i omogućuje rezultat u roku od 15-20 minuta, i jednostavno rukovanje (Grover, 2020). U američkom istraživanju koju je proveo Mockler sa suradnicima sudjelovalo je 475 osoba s COVID-19 bolešću. BAT test je identificirao infekciju COVID-19 u prosjeku 72% ljudi sa simptomima. Testiranje BAT testom je najvalidnije kada se koristi u prvom tjednu nakon prvih simptoma (u prosjeku 78% potvrđenih slučajeva imalo je pozitivne testove na antigen) zbog veće količine virusa u organizmu prvih dana zaraze (Mockler, 2021).

Iz našeg istraživanja u tablici 5. vidljivo je da nisu svi negativni rezultati provjereni RT-qPCR testom već samo 141 uzorak. U istoj tablici i grafikonu vidljivo je da je od ukupno 141 testiranih uzoraka, njih 136 potvrđeno negativnim (96,4%), a 5 je uzoraka pozitivno (3,6%). Znatni broj pacijenata koji su pozitivni na SARS-CoV-2 virus u asimptomatskoj fazi za točnu dijagnozu COVID-19 bolesti kada je BAT negativan, testiranje se provodi RT-qPCR-om zbog kontrole same epidemije (Kanaujia, 2020). Dobiveni podatci u našem istraživanju u potpunosti koreliraju sa Kanaujiovom studijom 2020 godine. koja ide u prilog da je RT-qPCR test od presudne važnosti za dijagnostiku i kontrolu epidemije. Također možemo utvrditi da je BAT važan za dijagnostiku simptomatskih pacijenata, te se redovito koristi u prvoj liniji testiranja na COVID-19 bolest.

WHO, EU i ECDC u svojim preporukama kod visoke razine prijenosa COVID-19 bolesti, podvrgavaju se RT-qPCR testiranju. Iz toga zaključujemo da je kod osoba koje imaju simptome prediktivna vrijednost BAT-a visoka, a negativna prediktivna vrijednost niska i suprotno tome kod asimptomatskih bolesnika pozitivna prediktivna vrijednost je niža, ali zbog nepoznatog broja zaraženih teško je procijeniti u kojoj je mjeri niža zbog nepoznate prevalencije. Zbog pozitivne epidemiološke anamneze ako je BAT pozitivan kod bliskih kontakata pacijenata kod kojih je utvrđena bolest RT-qPCR testiranjem, tumačimo rezultat pozitivnog BAT-a kao potvrdu infekcije kao i kod osoba s simptomima. Ako je BAT negativan kod bliskih kontakata, tada osobu u datom trenutku smatramo da nije zarazna i ne provode se mjere samoizolacije. U populaciji gdje je veliki broj oboljelih, BAT ima visoku prediktivnu vrijednost u slučaju kada se testiraju osobe sa simptomima, no kod asimptomatičnih pacijenata pozitivna prediktivna vrijednost je niža (HZJZ, 2020).

Rezultati tablice 7. u istraživanju koje smo proveli vidimo da je BAT urađen kod 175 pacijenata čiji je rezultat bio negativan, radi sigurnosti da je pacijent stvarno negativan urađen je kontrolni RT-qPCR test koji je pokazao da je bilo 136 pacijenata negativno i 5 pacijenata pozitivno. 141 pacijent je testiran RT-qPCR testom zbog prisutnih simptoma ili zbog bliskog kontakta kojima je rezultat BAT-a negativan, tj. zbog mogućnosti lažno negativnog rezultata. Dok kod 34 pacijenata nije urađen RT-qPCR test jer simptomi, laboratorijski nalazi i dijagnostičke pretrage nisu upućivale na COVID-19 bolest.

RT-qPCR test je zlatni standard kojim se određuju stvarno pozitivni i stvarno negativni rezultati. Naše je istraživanje pokazalo da je od ukupno 141 negativnih pacijenata testiranih BATom, njih 136 bilo stvarno negativno, a 5 pacijenata je bilo lažno negativno. Iz dobivenih rezultata moguće je izračunati negativnu prediktivnu vrijednost korištenog BATa. Negativna prediktivna vrijednost izračunala se formulom u kojoj se broj stvarno negativnih (136) podijelio sa zbrojem stvarno negativnih i lažno negativnih (136+5). Dobiveni rezultat od 96 % govori da je primijenjeni BAT vrlo pouzdan u probiru stvarno negativnih pacijenata na COVID-19 bolest.

Kod visoke incidencije virusa u populaciji, pozitivna prediktivna vrijednost BAT-a je visoka, zbog toga se smatra da je pozitivan rezultat BAT-a kod osobe koja ispunjava kliničke i epidemiološke kriterije za COVID-19 dovoljan je za potvrdu dijagnoze bolesti (HZJZ, 2020).

Ako je osoba asimptomatska testirana BAT-om i nalaz negativan, zbog mogućeg lažnog negativnog rezultata ponavlja se BAT nakon dva dana ili se odmah uradi RT-qPCR test. U slučaju da su kod osobe prisutni simptomi, a bliski kontakt laboratorijski potvrđene osobe BAT negativna, BAT se ponavlja nakon dva dana ili se odmah uradi RT-qPCR test (HZJZ, 2020).

7. Zaključak

U prosincu 2019. u Kini se pojavila nova bolest -COVID-19 uzrokovana novim teškim SARS-CoV-2 virusom, nakon čega se brzo proširio cijelim svijetom. Svjetska zdravstvena organizacija (WHO) je 11. ožujka 2020. proglasila COVID-19 pandemiju bolesti. Od 11. travnja 2020. godine do travnja 2021.godine COVID-19 uzrokovao je preko 4,5 milijuna smrtnih slučajeva u svijetu. Bolest se najčešće prenosi kontaktom sa zaraženim kapljicama, a razdoblje inkubacije kreće se od 2 do 14 dana. Simptomi su obično groznica, kašalj, grlobolja, nedostatak daha, umor, malaksalost.

Za dijagnosticiranje COVID-19 bolesti i otkrivanje SARS-CoV-2 virusa dana se najčešće koriste dva testa RT-qPCR i BAT. Usporedimo li ova dva testa dolazimo do slijedećih zaključaka: RT-qPCR test je vrlo pouzdan test, gotovo 100% daje točan nalaz. Za mikrobiološku analizu ovog testa koristi se laboratorij i sofisticirana oprema. Nalaz se čeka 5-6 sati. Nedostatci ovog testa su to što može pokazati da li je osoba u ovom trenutku zaražena, ako se uzme previše rano, a osoba je zaražena daje negativan nalaz.

BAT daje rezultate za 15 do 20 minuta. Brzi antigenski testovi su jeftiniji u usporedbi s RT-qPCR testovima i ne zahtijevaju specijaliziranu laboratorijsku opremu. Testiranje BAT-om brzo otkriva COVID-19 među visokorizičnim skupinama i mjestima gdje je velika fluktuacija ljudi. Osjetljivost BAT-a kreće se od 0% do 96%. Ako se pravilno ne uzme uzorak (dovoljna količina virusnog proteina) dobiva se lažno negativan nalaz, te je preporučljivo da se uradi RT-qPCR test.

Istraživanje je provedeno na uzorku od 298 pacijenata. Svi su pacijenti upućeni na Odjel infektologije OB Pula u razdoblju od 11.12.2020. do 05.02.2021. u vrijeme visoke incidencije COVID-19 bolesti u Istarskoj županiji.

Rezultati istraživanja u završnom radu idu u prilog da postoji značajna razlika u ova dva mikrobiološka testa. Iz rezultata dobivenih istraživanjem dolazimo do zaključka da se najčešće koristio BAT-test zbog jednostavne i brže dijagnostike, a PCR metoda kada je za to bila jasna indikacija a BAT test nalaz negativan.

Literatura

Abbott (2021) Panbio COVID-19 Ag rapid test device. [Online] Dostupno na <https://www.globalpointofcare.abbott/en/product-details/panbio-covid-19-ag-antigen-test.html> [Pristupljeno: 18.9.2021.]

Alimohamadi, Y, Sepandi, M, Taghdir, M., & Hosamirudsari, H. (2020) Determine the most common clinical symptoms in COVID-19 patients: a systematic review and meta-analysis. *Journal of preventive medicine and hygiene*, 61(3). E304–E312. [Online] Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7595075/> [Pristupljeno: 18.8.2021.]

Bwire G. M. (2020). Coronavirus: Why Men are More Vulnerable to Covid-19 Than Women. *SN comprehensive clinical medicine*, 1–3. Advance online publication. [Online] Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7271824/> [Pristupljeno: 18.8.2021.]

Çalica Utku A, Budak G, Karabay O, Güçlü E, Okan HD, Vatan A.(2020) Main symptoms in patients presenting in the COVID-19 period. *Scott Med J*. Nov;65(4):127-132. [Online] Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32807018/> [Pristupljeno: 18.8.2021.]

Cascella M, Rajnik M, Aleem A, Dulebohn SC, Di Napoli R.(2021) Features, Evaluation, and Treatment of Coronavirus (COVID-19). In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearl[Online] Dostupno na:<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32150360/> [Pristupljeno: 18.8.2021.]

Cerutti F, Burdino E, Milia MG, Alice T, Gregori G, Bruzzone B, Ghisetti V.(2020) Urgent need of rapid tests for SARS CoV-2 antigen detection: Evaluation of the SD-Biosensor antigen test for SARS-CoV-2. *J Clin Virol*. [Online] Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33053494/> [Pristupljeno: 18.8.2021.]

Centers for Disease Control and Prevention.(2020) Covid-19 [Online] Dostupno na: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/index.html>. [Pristupljeno: 18.8.2021.]

Cho, H, Jung, Y. H., Cho, H. B., Kim, H. T, & Kim, K. S. (2020). Positive control synthesis method for COVID-19 diagnosis by one-step real-time RT-PCR. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, 511, 149–153. [Online] Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.10.001>. [Pristupljeno: 29.8.2021.]

Cornelissen Laura, Géraldine De Muylder, Yves Lafort, Valeska Laisnez, Amber Litzroth, Els Van Valkenborgh, Chloé Wyndham Thomas. (2021) FACT SHEET COVID-19 disease (SARS-CoV-2 virus) [Online] Dostupno na:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32623959/> [Pristupljeno: 15.8.2021.]

Dos Santos W. G. (2020). Natural history of COVID-19 and current knowledge on treatment therapeutic options. *Biomedicine & pharmacotherapy Biomedecine & pharmacotherapie*, 129, 110493. [Online] Dostupno na:

<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110493> [Pristupljeno: 14.8.2021.]

Grover, Natalie (2020). PCR, antigen and antibody: Five things to know about coronavirus tests. [Online] Dostupno na: <https://ec.europa.eu/research-and-innovation/en/horizon-magazine/pcr-antigen-and-antibody-five-things-know-about-coronavirus-tests>. [Pristupljeno: 18.8.2021.]

Hassan, S. A, Sheikh, F. N., Jamal, S, Ezeh, J. K, & Akhtar, A. (2020). Coronavirus (COVID-19): A Review of Clinical Features, Diagnosis, and Treatment. *Cureus*, 12(3), e7355. [Online] Dostupno na: <https://doi.org/10.7759/cureus.7355>. [Pristupljeno: 26.8.2021.]

Ho Be, Ho Ap, Ho MA, Ho EC. (2020) Case report of familial COVID-19 cluster associated with High prevalence of anosmia, ageusia, and gastrointestinal symptoms. . [Online] Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33024695>. [Pristupljeno: 26.8.2021.]

Hrvatsko društvo za kliničku mikrobiologiju Hrvatskog liječničkog zbora (2020) Laboratorijska dijagnostika COVID-19 [Online] Dostupno na: <http://www.hdkm.hr/wp-content/uploads/2020/04/Laboratorijska-dijagnostika-bolesti-COVID-19-HDKM-HDIB-travanj-2020.pdf>. [Pristupljeno: 15.9.2021.]

Hrvatski zavod za javno zdravstvo (HZJZ) (2021) COVID-19 – izvješće HZJZ-a. [Online] Dostupno na: <https://www.hzjz.hr/aktualnosti/covid-19-izvjesce-hzjz-a/>. [Pristupljeno: 27.8.2021.]

Hrvatski zavod za javno zdravstvo (HZJZ) (2020) Uporaba brzih antigenskih testova. [Online] Dostupno na: https://www.koronavirus.hr/uploads/Upotreba_brzih_antigenskih_testova_26_11_7dda6b77c3.pdf. [Pristupljeno: 27.8.2021.]

Interim Guidelines for Collecting, Handling, and Testing Clinical Specimens for COVID-19 (Centers for Disease Control and Prevention, 2020). [Online] Dostupno na: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/guidelines-clinical-specimens.html>. [Pristupljeno: 27.8.2021.]

Jacofsky, D., Jacofsky, E. M., & Jacofsky, M. (2020) Understanding Antibody Testing for COVID-19. *The Journal of arthroplasty*, 35 (7S), S74–S81. [Online] Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32389405/> [Pristupljeno: 18.8.2021.]

Jamshidi, P., Hajikhani, B., Mirsaeidi, M., Vahidnezhad, H., Dadashi, M., & Nasiri, M. J. (2021). Skin Manifestations in COVID-19 Patients: Are They Indicators for Disease Severity A Systematic Review. *Frontiers in medicine*, 8, 634208. [Online] Dostupno na: <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.634208>. [Pristupljeno: 26.8.2021.]

Jegerlehner, S., Suter-Riniker, F., Jent, P., Bittel, P., & Nagler, M. (2021). Diagnostic accuracy of a SARS-CoV-2 rapid antigen test in real-life clinical settings. *International journal of infectious diseases* [Online] Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34242764/> [Pristupljeno: 18.8.2021.]

Kalinić, S. i sur. (2019) *Medicinska mikrobiologija*. 2 izdanje. Zagreb: Medicinska naklada

Kanaujia, R., Ghosh, A., Mohindra, R., Singla, V., Goyal, K., Gudisa, R., Sharma, V., Mohan, L., Kaur, N., Mohi, G. K., Bora, I., Ratho, R. K., Soni, R. K., Bhalla, A., & Singh, M. P. (2021). Rapid antigen detection kit for the diagnosis of SARS-CoV-2 - are we missing asymptomatic patients. *Indian journal of medical microbiology*, S0255-0857 (21) 04168-2.

[Online] Dostupno na: <https://europepmc.org/article/med/34294504> [Pristupljeno: 18.8.2021.]

Kardum P. M (2019) Bolest COVID-19-izazov laboratorijskoj dijagnostici. Dostupno na: [Online] Dostupno na: https://www.hkmb.hr/wp-content/uploads/2021/06/04_Bolest-COVID-19-izazov-laboratorijskoj-dijagnostici.pdf [Pristupljeno: 18.8.2021.]

Lin D, Liu L, Zhang M, Hu Y, Yang Q, Guo J, Dai Y, Xu Y, Cai Y, Chen X, Huang K, Zhang Z.(2020) Evaluations of the serological test in the diagnosis of 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) infections during the COVID-19 outbreak. [Online] Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7367508>. [Pristupljeno: 18.8.2021.]

Liu, K., Chen, Y., Lin, R., & Han, K. (2020). Clinical features of COVID-19 in elderly patients: A comparison with young and middle-aged patients. *The Journal of infection*, 80(6). [Online] Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32171866/> [Pristupljeno: 18.8.2021.]

Liu YC, Kuo RL, Shih SR. (2020) COVID-19: The first documented coronavirus pandemic in history. *Biomed J.* 2020 Aug;43(4):328-333. doi: 10.1016/j.bj.2020.04.007. Epub 2020 May 5. PMID: 32387617; PMCID: PMC7199674. [Online] Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32387617/>. [Pristupljeno: 18.8.2021.]

Marty M. Francisco. (2020) How to Obtain a Nasopharyngeal Swab Specimen. *Science, New Journal of Medicine XII (2)*. [Online] Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32302471/> [Pristupljeno: 18.8.2021.]

Mavrinac, M.(2014) Probir u kliničko-laboratorijskim istraživanjima. [Online] Dostupno na: <http://mi.medri.uniri.hr/assets/DMLD%20-%20probir.pdf>. [Pristupljeno: 18.8.2021.]

Mockel M, Coroman VM, Stegemann MS et al.(2021). SARS-CoV-2 antigen rapid immunoassay for diagnosis of COVID-19 in the emergency department. *Biomarkers*. [Online] Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33455451/> [Pristupljeno: 18.8.2021.]

Nastavni zavod za javno zdravstvo Andrija Štampar (2020) Uputa za uzimanje obriska nazofarinksa za testiranje na SARS-CoV-2. [Online] Dostupno na: <https://www.stampar.hr/hr/uputa-za-uzimanje-obriska-nazofarinksa-za-testiranje-na-sars-cov-2>. [Pristupljeno: 18.8.2021.]

Pal, M, Berhanu, G, Desalegn, C, & Kandi, V. (2020) Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS-CoV-2): An Update. *Cureus*, 12(3), e7423. [Online] Dostupno na: <https://doi.org/10.7759/cureus.7423> . [Pristupljeno: 19.8.2021.]

See, A., & Toh, S. T. (2020). Respiratory sampling for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2: An Overview. *Head & neck*, 42(7), 1652–1656. [Online] Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7267250/> . [Pristupljeno: 18.8.2021.]

She, J., Jiang, J., Ye, L., Hu, L., Bai, C., & Song, Y. (2020) 2019 novel coronavirus of pneumonia in Wuhan, China: emerging attack and management strategies. *Clinical and translational medicine*. [Online] Dostupno na: <https://doi.org/10.1186/s40169-020-00271-z> . [Pristupljeno: 18.8.2021.]

Shrestha, L. B., & Pokharel, K. (2020) Standard Operating Procedure for Specimen Collection, Packaging and Transport for Diagnosis of SARS-COV-2. *JNMA; journal of the Nepal Medical Association*, 58(228), 627–629. [Online] Dostupno na: <https://doi.org/10.31729/jnma.5260> [Pristupljeno: 28.8.2021.]

Song W, Gui M, Wang X, Xiang Y.(2019) Cryo-EM structure of the SARS coronavirus spike glycoprotein in complex with its host cell receptor ACE2. *PLoS Pathog.*:e1007236. [Online] Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30102747/> [Pristupljeno: 18.8.2021.]

Sun P, Lu X, Xu C, Sun W, Pan B.(2020) Understanding of COVID-19 based on current evidence. *J Med Virol*. 2020 Jun;92(6):548-551. [Online] Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32096567/> [Pristupljeno: 18.8.2021.]

Udugama, B., Kadhiresan, P., Kozlowski, H. N., Malekjahani, A., Osborne, M., Li, V., Chen, H., Mubareka, S., Gubbay, J. B., & Chan, W. (2020) Diagnosing COVID-19: The Disease and Tools for Detection. *ACS nano*, 14(4), 3822–3835. [Online] Dostupno na: <https://doi.org/10.1021/acsnano.0c02624> [Pristupljeno: 28.8.2021.]

Wang, H., Li, X., Li, T., Zhang, S., Wang, L., Wu, X., & Liu, J. (2020) The genetic sequence, origin, and diagnosis of SARS-CoV-2. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases* : official publication of the European Society of Clinical Microbiology, 39(9), 1629–1635. [Online] Dostupno na: <https://doi.org/10.1007/s10096-020-03899-4>. [Pristupljeno: 28.8.2021.]

Popis slika, tablica i grafikona

Popis slika

Slika 1. Panbio-testna kazeta

Slika 2. Prikaz pravilnog uzimanja brisa i pohrana uzorka na SARS-CoV-2 virus

Popis tablica

Tablica 1. Broj i postotak pacijenata prema spolu testiranih na COVID-19 bolest brzim antigenskim testom na Odjelu infektologije OB Pula (11.12.2020.-05.02.2021.)

Tablica 2. Broj i postotak pacijenata prema starosnoj dobi testiranih na COVID-19 bolest brzim antigenskim testom na Odjelu infektologije OB Pula (11.12.2020.-05.02.2021.)

Tablica 3. Vrste i učestalost simptoma kod pacijenata testiranih na COVID-19 bolest brzim antigenskim testom na Odjelu infektologije OB Pula (11.12.2020.-05.02.2021.)

Tablica 4. Rezultati testiranja na SARS-CoV-2 brzim antigenskim testom na Odjelu infektologije OB Pula (11.12.2020.-05.02.2021.)

Tablica 5. Rezultati testiranja na SARS-CoV-2 metodom RT-qPCR u ZZJZ IŽ (11.12.2020.-05.02.2021.)

Popis grafikona

Grafikon 1. Postotak pacijenata prema spolu testiranih na COVID-19 bolest brzim antigenskim testom na Odjelu infektologije OB Pula (11.12.2020.-05.02.2021.)

Grafikon 2. Broj i postotak pacijenata prema starosnoj dobi testiranih na COVID-19 bolest brzim antigenskim testom na Odjelu infektologije OB Pula (11.12.2020.-05.02.2021.)

Grafikon 3. Vrste i učestalost simptoma kod pacijenata testiranih na COVID-19 bolest brzim antigenskim testom na Odjelu infektologije OB Pula (11.12.2020.-05.02.2021.)

Grafikon 4. Rezultati testiranja na SARS-CoV-2 brzim antigenskim testom na Odjelu infektologije OB Pula (11.12.2020.- 05.02.2021.)

Grafikon 5. Rezultati testiranja na SARS-CoV-2 metodom RT-qPCR u ZZJZ IŽ (11.12.2020.- 05.02.2021.)

Sažetak

Pod pojmom COVID-19 podrazumijevamo akutnu respiratornu bolest uzrokovanu SARS-CoV-2 virusom koji ima visoku stopu infektivnosti. Higijena ruku, površina, fizička distanca i korištenje maski, predstavljaju optimalan način sprječavanja prijenosa bolesti. Ljudi zaraženi virusom SARS-CoV-2 mogu razviti različite simptome i u težim slučajevima mogu dovesti do smrti, ali bolesnici mogu biti i asimptomatični. Radi brzog širenja bolesti, pojavila se potreba za brzom i pouzdanom dijagnostikom. Primarne dijagnostičke metode za COVID-19 su RT-qPCR (reverzna transkriptaza kvantitativne lančane reakcije transkriptaze) i BAT (brzi antigenski test) testovi. RT-qPCR testovi izvode se u zdravstvenim ustanovama opremljenim automatiziranom opremom i vrlo su pouzdani. BAT testovi testiraju se na licu mjesta, vrlo su jednostavni za uporabu, pogodni i pouzdani za brzo otkrivanje infekcije i tako učinkovitiju kontrolu pandemije, a imaju usporedivu točnost i osjetljivost u usporedbi s RT-qPCR testovima. Cilj rada bio je prikupiti i analizirati podatke o ispitanicima koji su bili testirani na COVID - 19 bolest, te usporediti ispitanike koji su bili testirani BAT i RT-qPCR testom istih uzoraka u populaciji. Prikazane podatke koristili smo iz Opće bolnice Pula po dobivenoj suglasnosti Etičkog povjerenstva. U razdoblju od 11.12.2020. do 05.02.2021. rezultatima istraživanja zabilježeno je 298 pacijenata koji su testirani BAT testom, ali zbog sigurnosti, njih 141 je napravilo i RT-qPCR test. Usporedbom oba dva testa zaključujemo da se najčešće koristio BAT-test zbog jednostavne i brže dijagnostike, a PCR metoda kada je za to bila jasna indikacija a BAT test nalaz negativan.

Ključne riječi: COVID-19, SARS-CoV-2 virus, RT-qPCR test , BAT-test, negativna prediktivna vrijednost

Summary

Under the term COVID-19 we mean acute respiratory disease caused by SARS-CoV-2 virus with a high infectivity rate. Hand hygiene, surfaces, physical distance and use of masks are the optimal way of preventing the coronary disease. People infected with SARS-CoV-2 may develop different symptoms and may lead to death in more severe cases, but patients may also be asymptomatic. In order to rapidly spread the disease, there is a need for quick and reliable diagnostics. The primary diagnostic methods for COVID-19 are RT-qPCR (Reverse transcriptase of quantitative chain reactions of transcriptase) and BAT (rapid antigen test) tests. RT-qPCR tests are performed in health facilities equipped with automated equipment and are very reliable. BAT tests are tested on the spot, they are very simple for use, suitable and reliable for quick detection of infection and thus more efficient control of pandemic, and they have comparable accuracy and sensibility compared to RT-qPCR tests. The aim of this study was to collect and analyse floor data on subjects who were tested for COVID - 19 disease, and to compare subjects who were tested for BAT and RT-qPCR Tests of the same samples in the population. We used the presented data from the Pula General hospital according to the approval of the ethical nation In the period from 11.12.20. to 05.02.2021., 298 patients were tested with a BAT test, but for safety reasons, 141 of them were done and a RT-qPCR test. By comparing both tests, we conclude that the BAT test was most frequently crushed because of simple and faster diagnostics, and the PCR method when it was clearly indicated and the BAT test was negative.

Keywords: COVID-19, SARS-CoV-2 virus, RT-qPCR test, BAT-test, negative predictive value