

# Brzi antigenski testovi (BAT) u dijagnostici infekcija uzrokovanih SARS-CoV-2 virusom

---

**Saratlija, Marija**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2022**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split, School of Medicine / Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:171:703750>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-12-31**



*Repository / Repozitorij:*

[MEFST Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**

**I**

**MEDICINSKI FAKULTET**

**Marija Saratlija**

**BRZI ANTIGENSKI TESTOVI (BAT) U DIJAGNOSTICI INFEKCIJA UZROKOVANIH  
SARS-CoV-2 VIRUSOM**

**Diplomski rad**

**Akadska godina:**

**2021./2022.**

**Mentor:**

**doc. prim. dr. sc. Anita Novak, dr. med.**

**Split, listopad 2022.**

**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**

**I**

**MEDICINSKI FAKULTET**

**Marija Saratlija**

**BRZI ANTIGENSKI TESTOVI (BAT) U DIJAGNOSTICI INFEKCIJA  
UZROKOVANIH SARS-CoV-2 VIRUSOM**

**Diplomski rad**

**Akadska godina:**

**2021./2022.**

**Mentor**

**doc. prim. dr. sc. Anita Novak, dr. med.**

**Split, listopad 2022.**

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

## DIPLOMSKI RAD

**Kemijsko-tehnološki fakultet i Medicinski fakultet**  
**Integrirani preddiplomski i diplomski studij Farmacija**  
**Sveučilište u Splitu, Republika Hrvatska**

**Znanstveno područje:** Biomedicinske znanosti

**Znanstveno polje:** Farmacija

**Tema rada:** prihvaćena je na 74. sjednici Vijeća studija Farmacija te potvrđena na 21. sjednici fakultetskog vijeća Kemijsko tehnološkog fakulteta i 14. sjednici fakultetskog vijeća Medicinskog fakulteta

**Mentor:** doc. prim. dr. sc. Anita Novak, dr. med.

### **BRZI ANTIGENSKI TESTOVI (BAT) U DIJAGNOSTICI INFEKCIJA UZROKOVANIH SARS-CoV-2 VIRUSOM**

Marija Saratlija, broj indeksa: 216

#### **Sažetak**

**Cilj:** Cilj istraživanja je opisati princip rada, postupak izvođenja i primjenu brzih antigenih testova u dijagnostici infekcije COVID-19, usporediti učestalost pozitivnih i negativnih testova na SARS-CoV-2 u KBC-Split te opisati ulogu ljekarnika u dijagnostici COVID-19.

**Materijal i metode:** Pregledana je dostupna relevantna literatura koja se temelji na dosadašnjim kliničkim i epidemiološkim istraživanjima te podatci iz KBC Split o provedenim testiranjima u 2020. i 2021. godini.

**Rezultati:** Brzi antigeni testovi su imonokromatografski POC testovi koji predstavljaju pouzdanu zamjenu za PCR metodu s visokom osjetljivošću u detekciji akutne COVID-19 infekcije kod pacijenata s Ct<25 ili nastupom simptoma unutar 7 dana. U KBC Split 2020. i 2021. godine, provedena su ukupno 334 brza antigena testa na antigene SARS-CoV-2 virusa, od čega 303 testa 2021. za razliku od 2020. kada je napravljen samo 31 test, što je porast od čak 9,8 puta. Ukupan udio pozitivnih testova je 16,5% dok je udio negativnih testova 83,5%. Osim u laboratorijima, brzo antigeno testiranje provodi se u ljekarnama prema točno propisanim smjernicama Hrvatske ljekarničke komore.

**Zaključak:** U KBC Split 2021. godine proveden je značajno veći broj testiranja u odnosu na prethodnu godinu čemu su doprinijela nova saznanja o SARS-CoV-2 infekciji, razvoj specifičnih BAT i provođenje mjera zaštite kako bi se spriječio proboj virusa u bolnički sustav. Testovi odobreni za uporabu moraju zadovoljavati smjernice SZO-a. Kao najdostupniji zdravstveni radnici, ljekarnici su pokazali da mogu vješto surađivati u javnozdravstvenom odgovoru na pandemiju, održavanjem kontinuiteta zdravstvene usluge i preuzimanjem dodatne odgovornosti kako bi se smanjio pritisak na ostala područja zdravstva

**Ključne riječi:** brzi antigeni testovi, SARS-CoV-2, Covid-19, KBC Split

**Rad sadrži:** 54 stranice, 3 slike, 1 tablica i 27 literaturnih referenci

**Jezik izvornika:** hrvatski

#### **Sastav Povjerenstva za obranu:**

1. prof. prim. dr. sc. Ivana Goić Barišić, dr. med. - predsjednica povjerenstva
2. doc. dr. sc. Diana Gujinović, mag. pharm.
3. doc. prim. dr. sc. Anita Novak, dr. med. - mentor

**Datum obrane:** 05. 10. 2022.

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen** u Knjižnici Medicinskog fakulteta u Splitu, Šoltanska 2

## BASIC DOCUMENTATION CARD

## GRADUATE THESIS

**Faculty of Chemistry and Technology and School of Medicine  
Integrated Undergraduate and Graduate Study of Pharmacy  
University of Split, Croatia**

**Scientific area:** Biomedical sciences

**Scientific field:** Pharmacy

**Thesis subject:** was approved by Council Undergraduate and Graduate Study of Pharmacy, no. 74 as well as by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, session no. 21 and Faculty Council of School of Medicine, session no. 14

**Mentor:** Anita Novak, MD, PhD, A/Prof.

### RAPID ANTIGEN TESTS (RAT) IN DIAGNOSTICS OF SARS-CoV-2 INFECTIONS

Marija Saratlija, index number: 216

#### Summary

**Objectives:** The aim of the research is to describe the principle of operation, the procedure for performing and the application of rapid antigen tests in the diagnosis of the infection of COVID-19 and to compare the frequency of positive and negative tests for SARS-CoV-2 in the University Hospital of Split (UHS).

**Material and methods:** Available relevant literature based on previous clinical and epidemiological research and data from KBC Split on tests conducted in 2020 and 2021 were reviewed.

**Results:** Rapid antigen tests are immunochromatographic POC tests that represent a reliable replacement for the PCR method with high sensitivity in the detection of acute COVID-19 infection in patients with  $Ct < 25$  or the onset of symptoms within 7 days. In UHS, 334 rapid antigen tests for SARS-CoV-2 virus were performed during the study period, of which 303 tests were performed in 2021, and 31 in 2020, which is a significant increase (9.8 times). The total number of positive results was 16.5%, while the number of negative results was 83.5%. In addition to laboratories, rapid antigen testing is carried out in pharmacies according to the guidelines of the Croatian Chamber of Pharmacy.

**Conclusion:** In UHS in 2021, a significantly higher number of tests were conducted compared to the previous year, which was contributed by new knowledge about SARS-CoV-2 infection, the development of specific BAT and the implementation of protective measures to prevent the virus from entering the hospital system. Tests approved for use must meet WHO guidelines. As the most accessible healthcare workers, pharmacists have shown that they can skillfully cooperate in the public health response to the pandemic, by maintaining the continuity of the healthcare service and assuming additional responsibility to reduce the pressure on other areas of healthcare.



**Key words:** rapid antigen tests, SARS-CoV-2, Covid-19, University Hospital of Split

**Thesis contains:** 54 pages, 3 figures, 1 tables and 27 references

**Original in:** Croatian

#### Defense committee:

1. Ivana Goić Barišić, PhD, Prof. - chair person
2. Diana Gujinović, PhD, A/Prof. - member
3. Anita Novak, MD, PhD, A/Prof. - supervisor

**Defense date:** 05.10.2022.

**Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in** Library of School of Medicine, Šoltanska 2.

# SADRŽAJ

1.1. Epidemiologija COVID-19.....	1
1.2. Etiologija COVID-19, SARS i MERS .....	2
1.2.1. Varijante od značaja (engl. <i>variants of concern</i> , VOC).....	4
1.2.2. Varijante od interesa (engl. <i>variants of interest</i> , VOI) .....	5
1.3. Klinička slika bolesti .....	6
1.4. Dijagnostika.....	8
2. CILJEVI .....	10
3. METODE .....	12
3.1. Ustroj studije.....	13
3.2. Uzorci i podatci .....	13
3.3. Obrada podataka .....	13
4. REZULTATI.....	14
4.1. Princip rada antigenskih testova .....	15
4.1.1. Postupak testiranja .....	16
4.1.2. Interpretacija rezultata .....	18
4.1.3. Uzorkovanje .....	19
4.1.4. Upotreba BAT u različitim indikacijama.....	21
4.2. Rezultati testiranja u Kliničkom zavodu za mikrobiologiju KBC Split .....	27
4.3. Uloga ljekarnika u COVID-19 pandemiji .....	28
4.3.1. Testiranje u ljekarnama.....	28
5. RASPRAVA.....	30
6. ZAKLJUČCI .....	36
7. POPIS CITIRANE LITERATURE.....	38
8. SAŽETAK.....	42
9. SUMMARY .....	44
10. ŽIVOTOPIS .....	46

## **Zahvala**

*Zahvaljujem se od sveg srca mojoj dragoj mentorici doc. prim. dr. sc. Aniti Novak na ukazanom povjerenju, uloženom trudu, razumijevanju i savjetima pri izradi ovog diplomskog rada.*

*Veliko hvala mojoj obitelji i prijateljima koji su bili moja najveća podrška tijekom cijelog školovanja.*

*Hvala mom Domagoju zbog kojega je sve posebnije i ljepše.*

## **1. UVOD**



## 1.1. Epidemiologija COVID-19

Krajem 2019. godine, u kineskoj pokrajini Wuhan, pojavila se nova respiratorna bolest nepoznate etiologije i teškog kliničkog tijeka, s tendencijom brzog širenja. Već nekoliko tjedana kasnije, u siječnju 2020., kineske vlasti objavile su da je uzročnik te bolesti do tada nepoznata vrsta koronavirusa. Uzročnik je ime dobio prema kliničkoj slici koju izaziva SARS-CoV-2 (engl. *Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*), dok je bolest nazvana COVID-19 (engl. *Coronavirus disease of 2019*). Zbog brzog prostorno-vremenskog širenja i javno-zdravstvenog značaja, Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) 11. ožujka 2020. proglasila je pandemiju COVID-19 (1). Do kraja ožujka 2022. godine, uzrokovala je ili pridonijela smrtnom ishodu šest milijuna oboljelih te predstavlja najznačajniju zdravstvenu krizu od velike pandemije gripe 1918. godine (2). Bolest je izuzetno zarazna te je u 223 države zabilježeno više od 281 milijun oboljelih. Budući da je virus sklon mutiranju, ne iznenađuju rezultati novijih epidemioloških istraživanja koja otkrivaju da je u dvjestotinjak država zabilježena pojava novih SARS-CoV-2 varijanti od značaja (eng. *Variants of concern*, VOC). U studenom 2021. godine, pojavila se jedna od najznačajnijih varijanti, varijanta *omikron*, koja je do sada dokazana u 76 država (3).

Prvi zabilježeni slučaj u Republici Hrvatskoj bio je u veljači 2020. Broj oboljelih ubrzo je počeo rapidno rasti pa je Ministarstvo zdravstva (MZ) na prijedlog Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo (HZJZ), a u skladu s preporukama SZO, 11. ožujka 2020. donijelo odluku o proglašenju epidemije bolesti COVID-19 uzrokovane virusom SARS-CoV-2 na području čitave države. Dinamika bolesti prikazana je kroz pet valova širenja, pri čemu je posljednji bio u prosincu 2021., a posljedica je pojave gore spomenute omikron varijante (4).

Prijenos SARS-CoV-2 među ljudima moguć je na više načina, većinom preko respiratornih sekreta direktnim i indirektnim putem, a to značajno otežava kontrolu širenja bolesti i dovodi do naglog povećanja broja zaraženih. Kako bi se smanjio rizik od razvoja i širenja infekcije, nužno je poštivanje i provođenje mjera za zaštitu i prevenciju bolesti prema preporukama stručnih službi (izolacija oboljelih, nošenje maski na javnim mjestima i izbjegavanje većih okupljanja) (5).

## 1.2 Etiologija COVID-19, SARS i MERS

Koronavirusi (CoV) su veliki, ovijeni virusi koji posjeduju jednolančanu, pozitivnu RNK (ribonukleinsku kiselinu). Porodica *Coronaviridae* se prema genskoj strukturi dijeli u dvije potporodice: *Coronavirinae* i *Torovirinae* i pet rodova: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus*, *Bafinivirus* i *Torovirus*. Rasprostranjeni su među pticama i sisavcima, a predstavnici rodova *Alfa*, *Beta* i *Torovirus* mogu uzrokovati infekcije ljudi (većinom blage respiratorne infekcije nalik prehladi). Koronavirusi su do sada uzrokovali dvije velike epidemije u posljednja dva desetljeća, teški akutni respiratorni sindrom SARS (eng. *Severe acute respiratory syndrome*) i bliskoistočni respiratorni sindrom MERS (engl. *Middle East Respiratory Syndrom*) pa se u početku mislilo da je COVID-19 uzrokovan virusom SARS-a (3, 6).

Genetskim sekvencioniranjem dokazano je da virus SARS-CoV-2 genetski pripada skupini *Betakoronavirusa* u koju ubrajamo viruse SARS-CoV i MERS-CoV. U usporedbi s ova dva virusa, SARS-CoV-2 uzrokuje infekcije s umjerenim kliničkim tijekom, ali sa značajno većim stupnjem transmisije u zajednici. Duljina genoma je 30 kb te sadrži 14 ORF (engl. *Open Reading Frames*) koji kodiraju 27 proteina, među ostalim i četiri glavna strukturalna proteina:

1. protein šiljka ili S-protein (engl. *spike*)
2. protein ovojnice (E)
3. membranski (M) protein
4. nukleokapsidni (N) protein

**Spike protein** je transmembranski protein koji olakšava vezanje virusne ovojnice na ACE2 receptore (engl. *Angiotensin converting enzyme*) na stanicama domaćina, a sastoji se od receptorske S1 i membranske S2 podjedinice. *Spike* proteini strše izvan virusne ovojnice i formiraju karakterističan izgled virusa (nalik na krunu), od čega i potječe naziv virusa (lat. *corona*). S-protein se cijepa na amino N-kraju S1 podjedinice, što olakšava ulazak virusa u stanicu domaćina, dok je na karboksilnom C-kraju, S2 podjedinica koja je odgovorna za fuziju stanica. S1 podjedinica je podijeljena na RBD (eng. *Receptor Binding Domain*) i N-terminalnu domenu, koja olakšava ulazak virusa u stanice te je potencijalno ciljno mjesto za djelovanje novih cjepiva.

**Protein N** je vezan za virusni genom i uključen je u njegovu replikaciju, formaciju i izbjegavanje imunološkog odgovora domaćina.

**Membranski** protein je jedan od najobimnijih i najbolje očuvanih proteina u virusnoj strukturi. Najmanji je **protein E** koji olakšava produkciju, sazrijevanje i oslobađanje virusa (7).

Filogenetska analiza svrstava novi SARS-CoV-2 virus u istu skupinu sa SARS-CoV i Bat-SARS-*like* virusima, dok se MERS-CoV nalazi u sasvim drugoj skupini. To nam ukazuje da je tijekom evolucije SARS-CoV i MERS-CoV bio različit. Usporedba genoma SARS-CoV i SARS-CoV-2, pokazala je razliku od svega 380 aminokiselina i to većinom na genima za sintezu nestrukturalnih proteina, dok je 27 mutacija pronađeno u genima za proteine šiljka, koji su bitni za vezanje na receptore i ulazak u stanicu domaćina (što bi moglo objasniti manju patogenost novih varijanti virusa) (8).

Prema dostupnim podacima i genetskim analizama, virusi SARS-CoV-2 i SARS-CoV imaju iste stanične receptore za ACE2 (engl. *Angiotensin converting enzyme 2*), za razliku od MERS-CoV koji se veže na DPP4 (dipeptidil peptidaza-4) receptore za ulazak u stanicu. Nisu pronađene značajne supstitucije aminokiselina koje su direktno povezane s ACE2 receptorom, ali postoji 6 mutacija u drugim RBD (engl. *receptor-binding domain*) regijama. Analizom afiniteta za receptor dokazano je da se virus SARS-CoV-2 veže za ACE2 jače nego virus SARS-CoV, te se smatra da bi samo jedna nukleotidna mutacija na SARS-CoV-2 virusu dovela do daljeg povećanja njegove patogenosti. ACE2 receptor je vezan za plazma-membranu stanica različitih tkiva (donji dišni sustav, srce, bubrezi i probavni sustav). SARS-CoV virusi se većinom umnožava u pneumocitima tipa I i II te u enterocitima, inducirajući *down* regulaciju ACE2 receptora u plućnom epitelu, što doprinosi većoj patogenosti, nastanku akutnog plućnog oštećenja i razvoju akutnog respiratornog sindroma (8).

**Reproduktivni broj virusa (R)** je značajan pokazatelj infektivnosti virusa, a iskazuje se kao broj očekivanih slučajeva koji će biti zaraženi jednom inficiranom osobom. SZO je objavila podatke o reprodukti

vnom broju SARS-CoV-2 virusa (R: 2-2,5) što je više nego za SARS-CoV (1,7-1,9) i MERS-CoV (<1) i doprinosi većem pandemijskom potencijalu (8).

Sva tri virusa (SARS-Cov, SARS-CoV-2 i MERS-CoV) mogu uzrokovati slične kliničke simptome, i to većinom u pacijenata s kroničnim bolestima. Najčešće su zabilježeni simptomi: vrućica praćena kašljem, grlobolja i zaduha. Svi pacijenti imaju barem jedan od navedenih

simptoma, s tim da većina njih ima lakše simptome, a manji broj (oko 1% oboljelih) su asimptomatski. Biokemijski testovi izvedeni iz krvi pacijenata oboljelih od COVID-19 ne razlikuju se značajno od testova pacijenata oboljelih od ostalih koronavirusa (npr. limfopenija, trombocitopenija, smanjene vrijednosti serumskih albumina i povećane vrijednosti aminotransferaza, LDH, CK i CRP). Radiološka slika COVID-19 infekcije nalik je pneumoniji, koja je povezana i s ostalim koronavirusima. Najčešći CT nalaz pacijenata s COVID-19 infekcijom je bilateralna parenhimska (engl. *ground-glass*) pneumonija, s konsolidiranim okruglim perifernim lezijama. Tijek bolesti može se komplicirati nastupom zaduhe unutar 5 dana te akutnog respiratornog distres sindroma (ARDS) unutar 8 dana od početka bolesti. U 30% slučajeva potrebna je mehanička ventilacija, dok su u 17% nalazi slični infekciji SARS-CoV. Klinička slika infekcije MERS-CoV karakterizirana je češćim razvojem ARDS i potrebom za invazivnom potporom, posebno u starijih pacijenata i pušača, gdje je zamijećena i akutna ozljeda bubrega (AKI) kao česta komplikacija, što bi se moglo objasniti prisustvom DPP4 receptora u tubulima i glomerulima te može dovesti do multiorganskog zatajenja (8).

COVID-19 infekcija obično ima blažu kliničku sliku i lakše se širi u populaciji, u odnosu na infekcije koje uzrokuju SARS i MERS koronavirusi. Receptori za sva tri koronavirusa nalaze se u gornjem i donjem dišnom sustavu. Različita težina bolesti i klinički tijek, vjerojatno su posljedica različite infektivne doze; veća inokulirana doza olakšava brži prodor virusa u donji dišni sustav, uzrokujući teže pneumonije, dok manja inokulacijska doza obično zadržava virus u gornjem dišnom sustavu, uzrokujući blaže infekcije (8).

### **1.2.1. Varijante od značaja (engl. *variants of concern*, VOC)**

Od početka SARS-CoV-2 pandemije, pojavilo se mnogo novih varijanti virusa koje su izazvale zabrinutost među stanovništvom. Tijekom vremena, virus se prilagođava i evoluirao, a promjene u virusnom genomu utječu na njegovu patogenost. Samo jedna zamijenjena aminokiselina može povećati sposobnost virusa da izbjegne djelovanje imunološkog sustava i može značajno umanjiti učinkovitost cjepiva. SARS-CoV-2, kao i drugi RNK virusi, sklon je genetskoj evoluciji prilagođavajući se novim domaćinima, razvijanjem mutacija stvaraju opasnost od nastanka mnogobrojnih novih varijanti. Tijekom rane faze pandemije, genetske promjene su bile minimalne i globalno je dominirala varijanta D614G s većom transmisijom bez težih simptoma (3).

Do sada je zabilježen velik broj SARS-Cov-2 varijanti, od kojih se neke smatraju zabrinjavajućim varijantama (VOC), zbog njihovih utjecaja na zdravstveni sustav. Povezuju se s većom transmisijom ili virulencijom, smanjenjem neutralizirajućih protutijela nastalih cijepljenjem, mogućnošću izbjegavanja detekcije i smanjenjem terapijske učinkovitosti. Od početka pandemije, identificirano je pet VOC varijanti: alfa B.1.1.7 (UK, prosinac 2020.), beta B1.351 (Južna Afrika, prosinac 2020.), gama P.1 (Brazil, siječanj 2021.), delta B1.617.2 (Indija, prosinac 2020.) i omikron B1.1.529 (Južna Afrika, studeni 2021.). Svih pet imaju mutacije u RBD i NTD (nukleoproteinska domena), od kojih je N501Y na RBD zajednička svima, osim delta varijanti što rezultira većim afinitetom proteina šiljka za ACE2 receptore, pojačavajući vezanje virusa i ulazak u stanice (9).

*Omikron* varijanta je brzo nakon identifikacije prepoznata kao VOC, zbog više od 30 mutacija, a otkrivena je u pacijenata diljem Južne Afrike. Mutacije zahvaćaju proteine ovojnice, nukleokapside, matriksa, N-terminalne domene, šiljka (RBD i fuzijski) i brojne nestrukturane dijelove. Prema dobivenim rezultatima, omikron varijanta pokazuje 13 puta veću infektivnost i 2,8 puta veću zaraznost od delta varijante. Dokazano je kako Spike mutacije jako utječu na imunski odgovor i smanjuju učinkak neutralizirajućih protutijela. (3)

### **1.2.2. Varijante od interesa (engl. *variants of interest*, VOI)**

Varijante od interesa (VOI) su definirane kao varijante sa specifičnim genetskim markerima, koji su povezani s promjenama koje mogu pojačati transmisiju ili virulenciju, umanjiti učinkovitost neutralizacijskih protutijela stečenih cijepljenjem, mogućnost detekcije ili smanjenje učinkovitosti terapije. Dosad, SZO je opisala osam VOI: *Epsilon*, *Zeta*, *Eta*, *Theta*, *Kappa*, *Lamda* i *Mu*. *Epsilon* soj je zbog složenijih mutacija koje su dovele do povećane transmisije kasnije prebačen u VOC (3).

Evolucija novih varijanti virusa pokrenula je pitanje učinkovitosti njihovog dijagnosticiranja tj. dijagnostičkih mogućnosti brzih antigenskih testova (BAT). Utjecaj novih genetskih varijanti na karakteristike testa uvjetovan je vrstom promjene na proteinima, dizajnom testa i njihovom prevalencijom u populaciji. Antigenski testovi su dizajnirani za detekciju specifičnih virusnih proteina. Ako promjene u virusnom genomu promjene strukturu virusnih

proteina koji su ciljno mjesto antigenskih testova, moguće je da test ne detektira virus iako je prisutan, što dovodi do lažno negativnih rezultata (10).

Unatoč većoj stabilnosti N-proteina u usporedbi sa S-proteinom, pronađene su mutacije koje u nekim uvjetima mogu mijenjati dinamiku stabilnosti i imunogenetska svojstva, rezultirajući lažno negativnim rezultatima testova. Postoje izvještaji o mutacijama na N-proteinima koje su rezultirale lažno negativnim rezultatima, unatoč velikoj koncentraciji virusa, što je potvrđeno molekularnim testovima. Takve mutacije na N-proteinima, koje su već prisutne ili se mogu promijeniti tijekom pandemije, mogu utjecati na karakteristike N-specifičnih antigenskih testova. Trenutno dostupni BAT testovi detektiraju C-kraj proteina nukleokapside, dok je većina potvrđenih mutacija na N-kraju (10).

Dostupna istraživanja donose većinom ohrabrujuće rezultate o učinkovitosti BAT u detekciji novih virusnih varijanti, iako mali broj izvještaja ukazuje na manju osjetljivost nekih varijanti (varijante s neuobičajenim mutacijama na genima nukleokapsidnih proteina). Preporučuje se sustavno praćenje evolucije virusa, kako bi se na vrijeme uočilo smanjenje osjetljivosti testova i izradile pouzdane evaluacijske studije prije uvođenja novih osjetljivih i specifičnih brzih antigenskih testova (10).

### **1.3 Klinička slika bolesti**

Procjena težine COVID-19 infekcije vrši se prema određenim kliničkim kriterijima, a sama infekcija se dijeli u pet kliničkih kategorija:

- a) asimptomatska infekcija
- b) blagi oblik bez komplikacija
- c) srednje teški oblik
- d) teški oblik
- e) kritični oblik bolesti.

Većina pacijenata (80%) ima blage simptome. Prosječno 15% oboljelih razvije teži oblik bolesti, karakteriziran zaduhom, hipoksijom i promjenama na plućima, dok 5% bolesnika razvije najteži oblik bolesti s respiratornim distresom, stanjem šoka i multiorganskim zatajenjem.

Muškarci i žene imaju istu osjetljivost na infekciju, iako muškarci imaju veći rizik za razvoj težih oblika bolesti (5, 11).

Simptomi bolesti obično nastupaju nakon pet dana inkubacije i traju prosječno 11,5 dana (duljina inkubacije i trajanja bolesti ovisi o imunološkom sustavom i starosti pacijenta). U istraživanju provedenom u RH, u pacijenata pozitivnih na COVID-19 infekciju, najčešći simptomi bili su anosmija, vrućica, bolovi u mišićima i kašalj (7, 12).

Najčešći klinički znakovi oboljelih od SARS-CoV-2 infekcije su: vrućica i respiratorni simptomi kao što su kašalj, kratak dah, gubitak njuha i okusa te zaduha. U težim slučajevima infekcije nastaje bilateralna pneumonija, ARDS, zatajenje bubrega, metabolička acidoza, poremećaji cirkulacije, septički šok i smrt. Virus se uglavnom prenosi kapljičnim putem, kao što je kašljanje, kihanje ili pričanje te preko kontaminiranih ruku (dokazano je da virus može preživjeti na različitim površinama) (5).

Najtežu kliničku sliku razvijaju pacijenti koji imaju druge kronične bolesti (dijabetes, KOPB, kardiovaskularne bolesti, hipertenzija, debljina, astma, maligne bolesti ili HIV). Osobe starije od 60 godina, s narušenim imunitetom i komorbiditetima, podložniji su težim infekcijama koje primarno zahvaćaju respiratorni sustav, ali mogu utjecati na više organskih sustava. Virus koristi ACE2 receptore na površini stanica domaćina kako bi ušao u njih, a dokazano je da su određene bolesti povezane s izraženom ekspresijom ACE2 receptora i povećanim otpuštanjem proteina konvertaze, koji potiče ulazak virusa u stanice domaćina. Kako ACE2 receptori nisu prisutni samo u plućima, već i u srcu, endotelu, renalnim tubulima, intestinalnom epitelu i gušterači, SARS-CoV-2 potencijalno može inficirati i oštetiti ove organe. Povećana aktivnost limfocita i proupalnih medijatora uzrokuje imunološka oštećenja. Prisutnost kroničnih bolesti značajno povećava morbiditet i mortalitet od COVID-19 infekcije.

SARS-CoV-2 uzrokuje infekciju ne samo u odrasloj, već i u pedijatrijskoj populaciji. Meta-analizom dostupnih istraživanja dokazano je da se bolest javlja u svim dobnim skupinama, a najčešći simptomi su povišena tjelesna temperatura i kašalj. Većina oboljele djece je imala asimptomatsku infekciju ili blagi do umjereni tijek bolesti. Učestalost težih simptoma je bila 7%, što je značajno manje u odnosu na odrasle (25,6%). Blaži tijek u djece se pripisuje nižoj stopi komorbiditeta i slabijem imunološkom odgovoru u odnosu na starije pacijente (13, 14).

## 1.4 Dijagnostika

Pandemija SARS-CoV-2 veliki je izazov u dijagnostici i nadzoru infekcije. Dijagnostika SARS-CoV-2 infekcije uključuje poznavanje trenutne epidemiološke situacije, postavljanje kliničke sumnje na osnovu kliničke slike i mikrobiološki dokaz SARS-Cov2 u kliničkim uzorcima pacijenata. Brza identifikacija i izolacija pacijenata ključne su za kontrolu širenja bolesti.

Tijekom pandemije COVID-19, zlatni standard za otkrivanje SARS-CoV-2 infekcije postali su molekularni NAAT (eng. *Nucleic acid amplification tests*) testovi, koje karakterizira visoka osjetljivost i specifičnost u detektiranju RNK molekula. Nažalost, RT-PCR (eng. *Reverse transcription polymerase chain reaction*) testovi imaju svoja ograničenja, kao što su dulje vrijeme testiranja, potreba za posebnom opremom i stručnim osobljem te cijena.

Zbog gore navedenih ograničenja, kao i zbog stalnog povećanja broja aktivnih slučajeva na globalnoj razini, javila se potreba za razvojem jednostavnijih, jeftinijih i dostupnijih metoda testiranja koje bi zadovoljile povećane potrebe. Takvim kriterijima udovoljavaju brzi antigenski testovi (BAT) koji identificiraju virusne proteine u nazofarinksu ili uzorcima nosa korištenjem *lateral flow* imunokromatografske metode. Specifičnost testova je slična molekulskim, u rasponu od 93% do 100%, dok osjetljivost varira od 84 do 97%. BAT su vrlo korisni kod osoba koje su bile u bliskom kontaktu sa zaraženom osobom te u uvjetima visokog rizika, gdje redovitim testiranjem možemo lako detektirati infekciju i prevenirati daljnje širenje. Prednosti ovakvog načina testiranja su brza detekcija i pouzdani rezultati unutar 15 minuta, pristupačnost za sve osobe neovisno o postojanju simptoma, nedostatak zahtjeva za posebno obučanim osobljem i složenom opremom, već mogućnost korištenja od strane laika uz nadzor stručne osobe. Razvijeni su s namjenom da budu laboratorijski i POC (engl. *point-of-care*) testovi. Moguće pogreške u dijagnostici nadoknađuju se time što su brža alternativa za identifikaciju i izolaciju zaraženih osoba. Prema EU smjernicama, brzi antigenski testovi uvedeni su kao dijagnostička metoda za identifikaciju virusnih antigena u kliničkim uzorcima od prosinca 2020. Direktna kvalitativna detekcija virusnih proteina nukleokapside u nazofarinksu može se izvesti korištenjem LFIA (eng. *Lateral flow immunoassay*), a rezultati su dostupni unutar 15-30 minuta. Princip rada ovih testova se temelji na imunokromatografiji, a njihova je primjena značajno olakšala dijagnostiku i kontrolu bolesti (10, 12, 15).



Širokom uporabom brzih antigenskih testova kao tkz. POC testova dokazana je njihova značajna korist u bolnicama, ambulancama i na drugim mjestima. BAT su jednostavni za uporabu što omogućava analizu velikog broja uzoraka u kratkom vremenu, s dostatnom osjetljivošću te su idealni za testiranje simptomatskih pacijenata i aktivni probir na javnim mjestima (škole, fakulteti, tvrtke). Prema smjernicama ECDC (eng. *European Centers for Disease Control and Prevention*) to je dobro utemeljena strategija jer se *screening* programom lakše identificiraju asimptomatski slučajevi te sprječava virusna transmisija, pogotovo u slučajevima visokog rizika. Negativni BAT rezultati trebali bi se potvrditi RT-PCR metodom, osobito u simptomatskih pacijenata (1).

Brzo i točno testiranje na COVID-19 ima značajan utjecaj na preživljenje, praćenje kontakata, prevenciju zaraze i bolničko liječenje. ECDC je predložio objektivnu strategiju testiranja za države članice EU, sa specifičnim preporukama prema razini cirkulacije virusa u društvu, uzimajući u obzir dostupne javnozdravstvene izvore i kapacitet testiranja (10).

## **2. CILJEVI**

Ciljevi ovog istraživanja su:

1. Opisati princip rada, postupak izvođenja i primjenu brzih antigenski testova u dijagnostici infekcije COVID-19 u KBC Split.
2. Usporediti učestalost pozitivnih i negativnih testova na SARS-CoV-2 u Kliničkom zavodu za mikrobiologiju i parazitologiju KBC Split u 2020. i 2021. godini.
3. Opisati ulogu ljekarnika u dijagnostici COVID-19.

### **3.METODE**

### **3.1 Ustroj studije**

Provedeno je retrospektivno, presječno istraživanje.

### **3.2 Uzorci i podatci**

Pregledana je dostupna relevantna literatura koja se temelji na dosadašnjim kliničkim i epidemiološkim istraživanjima te podatci Kliničkoga zavoda za mikrobiologiju i parazitologiju KBC Split o provedenim brzim antigenskim testovima u dijagnostici infekcija uzrokovanih SARS-CoV-2 virusom u 2020. i 2021. godini.

Brzi antigenski testovi korišteni za provođenje testiranja na SARS-CoV-2 virusne antigene bili su Clinitest Rapid COVID-19 Antigen Test (Siemens Healthcare), a kao uzorci uzimani su obrisci nazofarinksa i ždrijela pacijenata.

### **3.3 Obrada podataka**

Podatci su obrađeni uz korištenje programskog paketa Office 2007, što uključuje programe Microsoft Word za tekstualne i brojčane podatke i Microsoft Excel za tablične i slikovne prikaze.

## **4. REZULTATI**

#### 4.1. Princip rada antigenskih testova

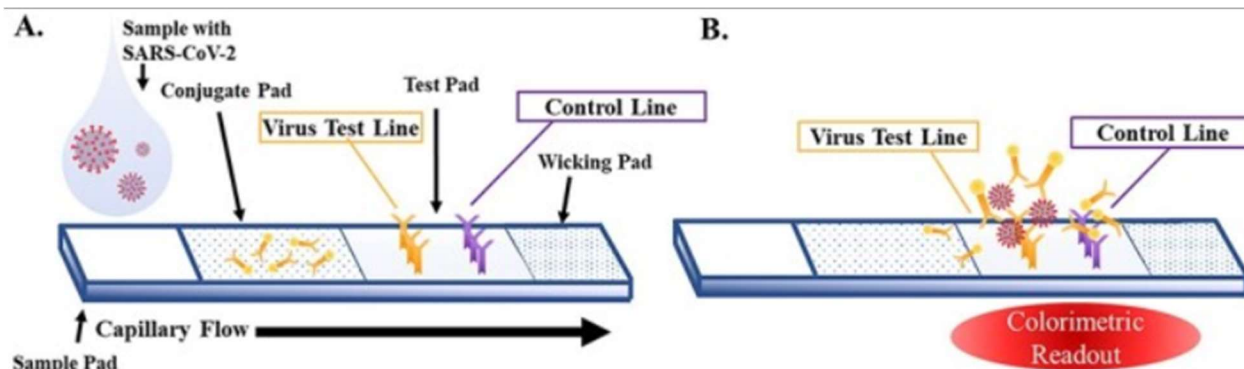
Brzi antigenski testovi se temelje na *in vitro* imunokromatografskoj analizi LFIA, (engl. *lateral flow immunoassay*) metodi za kvalitativno određivanje antigena, proteina nukleokapside SARS-CoV-2 u obrisku nazofarinksa ili nosa, koristeći visoko osjetljiva monoklonska protutijela. Testna traka se sastoji od jastučića za uzorak, celuloznog jastučića za reagens, nitocelulozne reakcijske membrane i absorbirajućeg jastučića. Reagens sadrži koloidno zlato konjugirano sa monoklonskim protutijelima, dok reakcijska membrana sadrži sekundarna protutijela za proteine nukleokapside virusa. Cijela testna traka je fiksirana unutar plastičnog spremnika.

Na jastučiću predviđenom za nanošenje uzorka, analit se konjugira s primarnim protutijelima označenim kolorimetrijskim markerima. Kada se doda uzorak, konjugati se otapaju i migriraju s uzorkom. Kompleks analita i protutijela protječe do testnog jastučića koji sadrži liniju s imobiliziranim protutijelima za analit (testna linija) i liniju sa sekundarnim protutijelima (kontrolna linija) koja je osjetljiva na primarna protutijela analita.

Ako su antigeni nukleokapside prisutni u uzorku, stvara se kompleks između anti-SARS-CoV-2 konjugata i virus će biti uhvaćen pomoću specifičnih anti-SARS-CoV-2 monoklonskih protutijela na reakcijskoj membrani.

Odsutnost testne linije označava negativan rezultat. Crvena linija u kontrolnoj regiji osigurava proceduralnu kontrolu, pokazujući da je dodan točan volumen uzorka koji je potreban za izvođenje reakcije.

Antigeni se većinom detektiraju u gornjem respiratornom traktu tijekom akutne faze bolesti, što doprinosi bržem otkrivanju infekcije te uspješnijem liječenju i učinkovitijoj kontroli bolesti. LFIA razvijene za virusnu i serološku detekciju COVID-19 imaju manju osjetljivost u usporedbi s molekulskim testovima, ali novije studije ističu važnost mogućnosti koje pružaju kao *point of care* testovi za učinkovit nadzor i suzbijanje širenja pandemije (16).



**Slika 1.** Shematski prikaz LFIA testiranja na SARS-CoV-2, izvor: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8194834/bin/gzab010f2.jpg>

Veliki broj komercijalnih testova s oznakom CE za dijagnostiku SARS-CoV-2 virusa je stavljen na tržište od početka pandemije te su postali ključna metoda za kontrolu širenja bolesti s obzirom na mogućnost njihove široke dijagnostičke primjene. BAT koji se temelje na LFIA tehnologiji nude značajnu prednost pred molekularnim analizama poput manjih troškova, jednostavne uporabe i manje zahtjevne tehničke opreme (17).

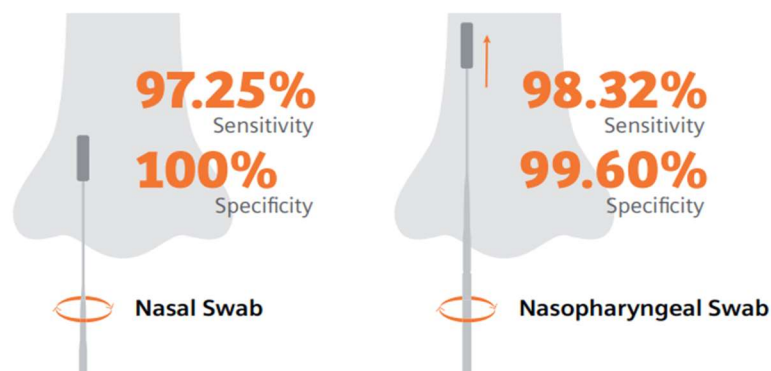
#### 4.1.1. Postupak testiranja

Unutar pakiranja nalaze se svi materijali potrebni za provođenje testiranja što uključuje: testnu kazetu, ekstrakcijski pufer, sterilni štapić, epruvetu s čepom te stalak.

Uzorkovanje:

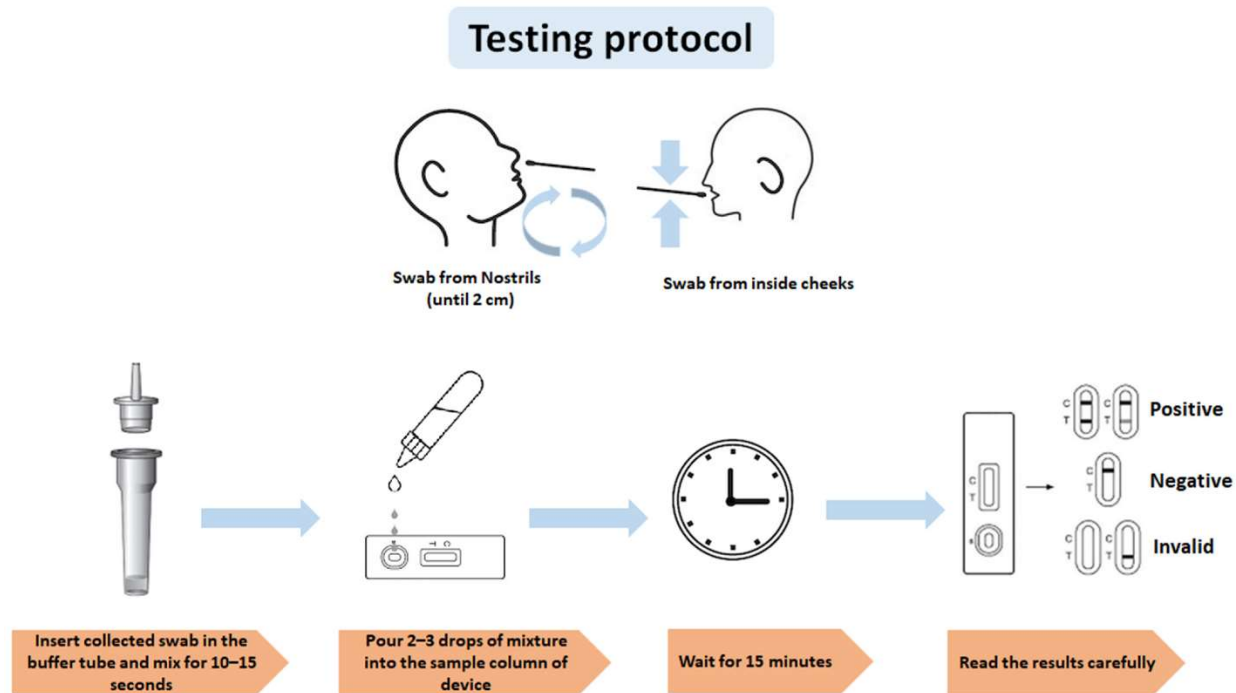
- Nazofarinks – sterilni štapić unijeti kroz pacijentovu nosnicu sve do stražnjeg dijela nazofarinksa i rotirati po površini nekoliko puta te pomiješati s ekstrakcijskim puferom
- Nos – pažljivo unijeti sterilni štapić u obje nosnice pacijenta oko 2-4 cm dubine i rotirati 5 puta kako bi se prikupilo dovoljno uzorka, potom se miješa s ekstrakcijskim puferom





**Slika 2.** Usporedba različitih načina uzorkovanja, izvor: <https://www.siemens-healthineers.com/point-of-care-testing/covid-19-testing/covid-19-tests/clinitest-covid-19-antigen-test/clinical-performance>

Epruveta se postavlja uspravno na stalak i dodaje se 10 kapi ekstrakcijskog otapala. Štapić (bris) sa uzorkom se stavlja u pripremljenu epruvetu i dobro promiješa barem 6 puta, doticanjem dna i bočnih strana epruvete te se tako ostavi 1 minutu pritiskajući vanjsku stranu epruvete nekoliko puta, kako bi se bris što bolje otopio u reagensu, a zatim se bris ukloni i baci. Četiri kapi pripremljene otopine se istisnu na test u predviđeno mjesto i rezultati se mogu očitati nakon 15 minuta (17).



**Slika 3.** Protokol testiranja za BAT, izvor:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9030639/figure/diagnostics-12-00847-f001/>

#### 4.1.2. Interpretacija rezultata

- **Pozitivan rezultat** je rezultat s dvije obojene linije (kontrolna, C i testna, T).
- Ukoliko je prisutna samo kontrolna linija (C), test je **negativan**.
- Ako kontrolna linija (C) nije prisutna, **test nije valjan**, a mogući razlozi su istek roka valjanosti, neispravno rukovanje testom ili nedostatna količina uzorka.
- **Intenzitet** testne linije (T) može varirati s obzirom na koncentraciju analita prisutnog u uzorku. Svaka nijansa prisutna u testnom području smatra se pozitivnom jer se radi o kvalitativnom testu (17).

Kada se BAT testovi koriste za otkrivanje SARS-CoV-2 infekcije tijekom sezone gripe, preporuka je da se provede testiranje i na ostale uzročnike respiratornih infekcija uz tipizaciju prisutnog soja. EU preporuke za COVID-19 prihvaćaju detekciju antigena u kliničkim uzorcima i uključivanje BAT rezultata u izvještaje o kontroli epidemije, iako su metoda izbora još uvijek

NAAT testovi. Države koje koriste BAT testove trebaju osigurati slanje reprezentativnih uzoraka nacionalnim referentnim laboratorijima kako bi se osigurala karakterizacija cirkulirajućih virusa (7).

**Ograničenja testa:** etiologija respiratorne infekcije patogenom različitim od SARS-CoV-2 ne može se dokazati ovim testom kao ni razlikovati prisutnost infektivnih od neinfektivnih sojeva. Ako je rezultat testa negativan, uz prisustvo simptoma, potrebno je ponoviti test. Negativni rezultat nikako ne isključuje postojanje infekcije, već je mogući uzrok mala koncentracija virusa (ispod razine detekcije) ili pogreška u prikupljanju i transportu uzorka. Osim rezultata testa, za potvrdu dijagnoze, potreban je pregled liječnika i laboratorijske pretrage. Pozitivan test ne isključuje infekciju nekim drugim patogenom niti može diferencirati različite podgrupe SARS-CoV virusa.

Količina antigena opada s vremenskim odmakom, tako da nakon 10 dana od nastupa bolesti, negativan rezultat je očekivan u usporedbi s RT-PCR metodom. Negativan rezultat testa nakon 10 dana, uz vidno postojanje simptoma kod pacijenta, ne isključuju postojanje SARS-CoV-2 infekcije, već bi se trebao smatrati **vjerojatnim slučajem** i uoliko je potrebno provjeriti molekulskim testom (17).

Uporaba BAT ima određene **nedostatke**. Proizvođači uglavnom preporučuju uzimanje obriska nazofarinksa, a samotestiranje nije klinički odobreno niti postoji kontrola pravilnog uzorkovanja. Uzorci za antigensko testiranje se ne šalju u laboratorij na daljnju analizu ili nisu pogodni za karakterizaciju patogena, kao što je sekvencioniranje. Za razliku od NAAT, antigenski testovi detektiraju prisustvo virusnih antigena u uzorku pacijenta bez amplifikacije, stoga pokazuju nižu osjetljivost, dok je specifičnost visoka i uglavnom slična molekularnim testovima (7).

#### 4.1.3. Uzorkovanje

Jedan od najvažnijih faktora koji utječu na performanse dijagnostičkih testova je pravilno uzimanje uzorka. Dokazivanje SARS-CoV-2 antigenim testovima uglavnom se provodi na uzorcima nazofarinksa, orofarinksa ili nosa prema preporukama proizvođača. Samotestiranje korištenjem sline nije dosada klinički odobreno za BAT testove. Priroda i heterogenost uzoraka sline može uzrokovati poteškoće u provedenju testiranja, te se očekuje smanjena osjetljivost u

usporedbi s molekulskim testovima. Stručnjaci HSC (engl. *Health and safety committee*) tehničke radne skupine su isključili BAT testove koji koriste uzorke sline, krvi, sputuma ili fecesa (7).

*Point-of-care* antigenske testove treba provoditi zdravstveno, laboratorijsko osoblje ili osobe educirane za pravilno uzorkovanje, testiranje, interpretaciju i izvještavanje o rezultatima (7).

Samouzorkovanje i samotestiranje brzim antigenim testovima je dobra dopuna profesionalnom testiranju. Omogućava brzo dobivanje rezultata, što doprinosi ranoj detekciji i izolaciji oboljelih te smanjuju daljnju transmisiju bolesti. Međutim, prebacivanje odgovornosti o izvještavanju rezultata testova sa zdravstvenog osoblja na same pacijente može dovesti do nedostatnog nadzora te ugroziti mjere, kao što je praćenje kontakata i pacijenata u karanteni. Dok se samotestiranje pod nadzorom i BAT provedeni u laboratoriju mogu prihvatiti kao valjani rezultati, testovi koje provode nestručne osobe ne bi se trebali koristiti za izdavanje COVID potvrda (7).

Replicirajući virus može se izolirati iz nazofarinksa pacijenata sa slabim do umjerenim simptomima 6 dana prije, do 9 dana nakon pojave simptoma. Najveća koncentracija virusa u respiratornim uzorcima je 3 dana prije i 3 dana poslije pojave simptoma (7).

Kao što je spomenuto, BAT su pokazali bolju učinkovitost u otkrivanju slučajeva u danima oko pojave simptoma, kada je prisutno najviše virusnih čestica. Stoga bi se trebali koristiti što je prije moguće, ali unutar 5 dana. Klinička analiza uzima u obzir epidemiološku situaciju, povijest bolesti, cijepljenje i dostupne izvore testiranja kako bi se utvrdila potreba za ponovnim testiranjem u slučaju negativnog testa. Ako nije dostupan NAAT, antigeni test se ponavlja unutar 48 sati (7).

Asimptomatski kontakti trebaju se testirati čim prije nakon što se ustanovi potencijalna povezanost. Ukoliko prođe više od 7 dana, povećava se rizik od lažno negativnih rezultata zbog smanjenja koncentracije virusa koja ovisi o periodu inkubacije virusa. U tom slučaju negativni rezultati bi se trebali potvrditi NAAT metodom ili antigenim testom nakon 2 do 4 dana. Također, prerano testiranje, odmah ili dan-dva od izlaganja izvoru zaraze povećava mogućnost lažno negativnih rezultata. SARS-CoV-2 nove varijante mogu imati specifičnu dinamiku pa bi se vrijeme uzorkovanja trebalo prilagoditi prema postojećoj epidemiološkoj situaciji. (7)

#### 4.1.4. Upotreba BAT u različitim indikacijama

Pored karakteristika samih testova, ostali praktični aspekti imaju značajnu ulogu u donošenju odluke o upotrebi testa i u kojoj indikaciji. Utjecati mogu pravovremenost rezultata, pouzdanost u slučaju povećane potrebe, jednostavnost uporabe, dostupnost instrumentacije te ljudski i materijalni resursi. Epidemiološka situacija u specifičnom okružju ili području/regiji/državi utjecat će na odabir najprikladnijeg testa i strategije testiranja (7).

##### 1) Javnozdravstvena uporaba

- Brza identifikacija SARS-CoV-2 infekcije kod osoba sa simptomima nalik gripi ili akutnom respiratornom infekcijom
- Klinička obrada pacijenata sa simptomima COVID-19 pri prijemu
- Kontrola transmisije bolesti, rana detekcija, praćenje kontakata, testiranje šire populacije
- Ublažavanje utjecaja COVID-19 na zdravstvene i socijalne uvijete: trijaža pri prijemu, rana detekcija i izolacija pacijenata
- Identifikacija žarišta izbijanja infekcije u posebnim uvjetima: rano otkrivanje i izolacija
- Osiguranje EU DCC (eng. *EU Digital COVID Certificate*) potpore za otvaranje društva, uključujući uvjete za osiguranje edukacije i preporuke vezane uz putovanja

BAT testovi pružaju značajnu prednost naspram NAAT jer se mogu provesti na licu mjesta bez odlaska u specijalizirane ustanove i osiguravaju pravovremene rezultate te omogućavaju rani početak javnozdravstvenih akcija i bolničkog liječenja (7).

##### 2) Prevalencija i prediktivne vrijednosti

Prediktivne vrijednosti ovise o prevalenciji virusa na određenom području i karakteristikama korištenog testa.

**Kod visoke prevalecije bolesti** (zahvaćeno je više od 10% populacije) BAT imaju visoku PPV. Pozitivni rezultati dobiveni u takvim područjima (čak i testovima niske specifičnosti i veće vjerojatnosti lažno pozitivnog rezultata) najčešće ukazuju na stvarnu infekciju i nije potrebna potvrda rezultata. Prvi pozitivni slučaj zaraze trebao bi se potvrditi nekom drugom metodom, kao što je NAAT ili BAT drugog proizvođača. Negativne rezultate bi trebalo potvrditi NAAT ili antigenskim testom drugog proizvođača, nakon kliničke obrade, uzimajući u obzir epidemiološku situaciju, povijest bolesti, cijepljenje i dostupnost testiranja. To je osobito bitno kada su osobe u

bliskom okruženju, kao što su domovi za starije i u simptomatskih osoba visoke sumnje na SARS-CoV-2. Kod pacijenta narušenog zdravlja sa simptomima bolesti, RT-PCR metoda bi bila najbolja opcija za potvrdu ili isključenje zaraze drugim respiratornim patogenima (7).

**Područja niske prevalencije** bolesti tj. manje od 5% zahvaćenosti populacije, BAT imaju uglavnom visoku NPV, koja varira ovisno o karakteristikama testa. Niska PPV također je očekivana kod drugih testova (NAAT) i ovisi o specifičnosti samog testa. ECDC preporuka za povećanje PPV testiranja je upotreba testova visoke specifičnosti, čak i kod prevalencije niže od 5% (ako je specifičnost testa 99%, PPV će biti iznad 80%). Ispravnim korištenjem testa (5 dana od pojave simptoma ili 7 dana od izlaganja) i ponavljanjem u slučaju potrebe, BAT bi trebao dokazati visoko infektivne slučajeve u takvoj situaciji. Negativni testovi ne zahtijevaju potvrdu NAAT metodom, za razliku od pozitivnih. Ponavljajuća BAT testiranja svaka 2 do 3 dana s ciljem identificiranja zaraženih osoba u populaciji može značajno ublažiti nisku osjetljivost testa te se može primijenjivati u određenim uvjetima kao što je testiranje osoblja u zdravstvenim ustanovama. U slučaju niske prevalencije, dostupnost NAAT testova i logistički kapaciteti su od velikog značaja kako bi se osigurali brzi i pouzdani rezultati (7).

### **3) Simptomatski pacijenti**

BAT su u uporabi za testiranje osoba sa simptomima kompatibilnima bolesti COVID-19. U uvjetima s prevalencijom manjom od 10%, pozitivne rezultate potrebno je potvrditi drugom metodom (RT-PCR) ili BAT drugog proizvođača. Ako potvrdni test pokaže negativnu vrijednost, pacijent bi trebao ostati kod kuće dok se ne povuku simptomi. Daljnja obrada je potrebna ako je antigenski test pozitivan više puta zaredom, usprkos tome što NAAT pokazuje negativni rezultat. Antigenski testovi bi se trebali koristiti samo ako je testiranje moguće unutar 5 dana od pojave simptoma. Za kliničku procjenu potrebno je uzeti u obzir epidemiološku situaciju, povijest bolesti, cijepljenje, a ukupna prezentacija i testni resursi određuju potrebu za potvrdnim testiranjem drugom metodom. Ako nisu dostupni NAAT, može se ponoviti BAT testiranje unutar 48h.

- Uvjeti visoke prevalencije bolesti za testiranje moguće COVID-19 infekcije
- Bliski kontakti osoba s pozitivnim NAAT, kako bi se olakšala rana detekcija daljnjih slučajeva za praćenje tijeka bolesti

- Umanjenje utjecaja COVID-19 infekcije na zdravstvene i socijalne prilike: trijaža simptomatskih pacijenata pri prijemu u bolnicu ili osoblja za ranu detekciju bolesti. Potvrdni testovi zahtijevaju izolaciju pacijenata ili primjenu drugih preventivnih mjera
- Za praćenje kontakata neovisno o cijepljenju koji imaju simptome ili su ih razvili tijekom praćenja trebali bi biti testirani što je prije moguće kako bi se primijenile mjere izolacije i daljnje praćenje kontakata. Mogu se koristiti obje vrste testova s tim da su BAT korisniji zbog brže obrade rezultata te bi se trebali primijeniti 5 dana od pojave simptoma, a u slučaju povećane sumnje kod negativnih rezultata trebali bi se potvrditi molekulskim testom ili ponoviti antigenski test nakon 48 sati.

Prije upotrebe BAT potrebno je provesti analizu rizika kako bi se odredila mogućnost i utjecaj na pogrešne rezultate. Također, potrebno je osigurati testove za potvrdu rezultata (7).

#### 4) Asimptomatski pacijenti

Testiranje asimptomatskih pacijenata BAT moguće je na područjima visoke prevalencije, za testiranje bliskih kontakata. U takvoj situaciji PPV i NPV su očekivano visoke. Kada je poznato vrijeme proteklo od kontakta sa zaraženom osobom, testiranje je potrebno provesti što je prije moguće. Ako je prošlo više od 7 dana, negativni test se mora potvrditi NAAT metodom (7).

Koncentracija virusa u asimptomatskih ili pre-simptomatskih osoba može biti ista kao i kod simptomatskih osoba, dok neke studije pokazuju niže vrijednosti. Točan infektivni period se ne može odrediti zbog nedostatka simptoma. Performanse BAT mogu biti smanjene u primarno asimptomatskih pacijenata, kod pojave bolesti nakon cijepljenja ili kod sekundarnih infekcija. Novije metaanalize potvrđuju da je osjetljivost BAT testova niža kod asimptomatskih pacijenata. U drugoj metaanalizi, prosječna specifičnosti antigenskih testova kod asimptomatskih pacijenata je bila visoka, s ukupnom specifičnošću od 99,6% (7).

Asimptomatski pacijenti kod visoke prevalencije mogu se smatrati skupinom niske prevalencije gdje će izloženost biti varijabilna i ovisi o prevalenciji na tom području. U jednom istraživanju na asimptomatskim atletičarima pokazano je da je usprkos niskoj PPV antigenskih testova korištenih u području niske prevalencije bolesti, postotak osoba kojima je bio potreban potvrdni test NAAT bio 1%. To znači da bi dvostupanjsko testiranje tj. potvrda antigenskog testa molekulskim, moglo biti brza i povoljna opcija za *screening* asimptomatskih pacijenata u

područjima niske prevalencije. Kontrola transmisije BAT može se koristiti za testiranje asimptomatskih kontakata visokog rizika. Negativne rezultate trebalo bi potvrditi NAAT metodom, ako je od kontakta prošlo više od 7 dana (7).

- Necijepljeni kontakti, bez obzira na faktore rizika trebali bi se što prije testirati uzimajući u obzir povećanu transmisiju *delta* varijante virusa. Prioritet su osobe visokog rizika ili područja gdje je povećana transmisija, kao što su socijalne i zdravstvene ustanove, zatvori i društveni događaji.
- Cijepljene pacijente visokog rizika za praćenje kontakata potrebno je testirati NAAT ili BAT testovima. Ako je test negativan, nije potrebna izolacija. Prema novim podacima, učinkovitost cjepiva je smanjena protiv novih varijanti, stoga se preporuča testiranje drugom metodom nakon 2 do 4 dana, kako bi se povećala vjerojatnost za identifikaciju i izolaciju pacijenata.
- Kod osoba koje su u stalnom bliskom okruženju, kontakti se mogu testirati antigenskim testom. Negativni rezultat trebalo bi potvrditi drugom metodom nakon 2 do 4 dana, kako bi se osiguralo efikasno praćenje kontakata.
- U područjima visoke prevalencije za detekciju pacijenata s visokim potencijalom prijenosa zaraze u zajednici i time smanjenog pritiska na zdravstveni sustav. Rizik od lažno negativnog rezultata nadoknađuje se brzinom rezultata i mogućnošću serijskog testiranja.
- *Screening* i testiranje svaka 2 do 3 dana zdravstvenog osoblja, osoba na kućnoj njezi, ili u domovima za nemoćne te bliskom okruženju i napuštenim područjima gdje je prisutna visoka transmisija zaraze. Studija pokazuje kako izbijanje epidemije ovisi o učestalosti testiranja, brzini izvještavanja i primijeni mjera zaštite, dok blago pozitivan utjecaj ima bolja osjetljivost testa. Dodatno, dokazano je da serijsko antigensko testiranje svaka 3 dana ili 2 puta tjedno gotovo uvijek identificira SARS-CoV-2 tijekom rane faze infekcije, što značajno smanjuje transmisiju bolesti. Ako to resursi dopuštaju, takav način testiranja je potencijalno značajna javnozdravstvena praksa zajedno sa ostalim preventivnim mjerama.

Simptomatski pacijenti trebali bi se suzdržavati od putovanja (prema ECDC smjernicama). Putnici uglavnom pripadaju asimptomatskoj subpopulaciji sa varijabilnom, ali niskom vjerojatnosti



infekcije u usporedbi s općom populacijom, prevalencija COVID-19 < 1%. BAT testiranja prije putovanja mogu se koristiti za *screening* putnika koji ulaze ili izlaze iz države. Međutim, zbog njihove manje osjetljivosti, BAT testovi ne bi trebali biti testovi izbora za *screening* dolazećih putnika za prevenciju infekcije u regijama koje su spriječile transmisiju ili su je snizili na najmanju moguću mjeru. Zbog toga se u tim slučajevima koristi NAAT metoda kako bi se smanjio rizik od lažno negativnih rezultata. Kod asimptomatskih pacijenata s pozitivnim BAT rezultatima, testiranje je potrebno potvrditi drugom metodom. Kod primjene BAT testova za *screening* putnika treba se voditi ECDC i EASA smjernicama za mjere koje se primjenjuju u zračnom prometu (7).

## 5) Potvrda oporavka

ECDC je odobrio validirane antigenske testove s CE oznakom koji zadovoljavaju kriterij visoke specifičnosti >98% za korištenje u svrhu potvrde preboljenja COVID-19 infekcije jer je time veća i pouzdanost testa što je od iznimne važnosti kod potvrde oporavka od bolesti. Predloženo je da se u državama članicama koriste BAT koji se nalaze na zajedničkoj listi odobrenih COVID-19 testova. Lista odobrenih testova za tu svrhu je unaprijeđena i dostupna na stranicama HSC TWG društva za COVID-19. Kod asimptomatskih osoba, pozitivan BAT trebao bi se potvrditi drugom metodom (7).

## 6) Utjecaj cjepiva

Osobe koje su cijepljenje protiv SARS-CoV-2 neće biti pozitivne na NAAT ili BAT, odnosno komponente cjepiva ne detektiraju se na dijagnostičkim testovima. Dostupna mRNA cjepiva sadrže nereplicirajuću mRNA koja se razgrađuje nakon što stanica producira virusne proteine (7).

Prije pojave *delta* varijante, cjepivo protiv COVID-19 dovelo je do smanjenja virusne transmisije što je pokazano na osobama koje su primile cjepivo za vrijeme trajanja epidemije.

Studije koje su proučavale širenje prethodno dominantne *alfa* varijante virusa pokazale su smanjenje transmisije virusa pri ponovnoj infekciji kod osoba koje su prethodno primile cjepivo (7).

Mogućnost zaraze COVID-19 infekcijom je niža kod cijepljenih osoba. Slično kao i kod niske prevalencije, PPV je smanjena i posljedično broj lažno pozitivnih rezultata se povećava. Uvođenjem serijskog testiranja može se smanjiti rizik kod inicijalno negativnih rezultata koji

ponovnim testiranjem prelaze u pozitivne tj. smanjuje mogućnost pogrešne detekcije kod inficiranih osoba. Pozitivni rezultati antigenskog testiranja trebali bi se potvrditi drugom metodom, NAAT ili BAT. (7)

Studije provedene tijekom trajanja *delta* varijante su dokazale da virusno opterećenje kod zaraženih osoba može biti jednako, neovisno o cijepljenju. Smanjenje virusnog opterećenja bi u teoriji moglo smanjiti performanse BAT testova kod *alfa* varijante, dok povećanje povezano s infekcijom *delta* varijante koja je bila dominantna u Europi i svijetu, nije imalo značajan utjecaj na karakteristike BAT (7).

Povećana procijepljenost stanovništva može imati pozitivan utjecaj na smanjenje prevalencije COVID-19 u različitim populacijama i uvjetima što bi se odrazilo na karakteristike brzih antigenih testova. Ako bi procijepljenost i dalje rasla, zahtjevi za ponovnim ili potvrdnim testiranjem mogli bi se revidirati (7).

## 7) EU regulativa

Prema preporukama SZO antigeni testovi koji zadovoljavaju minimum kriterija >80% osjetljivosti i >97% specifičnosti mogu se koristiti u dijagnostici SARS-CoV-2 infekcije, ako NAAT testovi nisu dostupni ili ako bi prekomjerno vrijeme obrade onemogućilo kliničku i javnu korist rezultata. ECDC prihvaća prijedloge SZO te zagovara upotrebu testova čiji su kriteriji slični molekulskim te kaže kako bi testovi trebali biti validirani prema trenutnoj epidemiološkoj situaciji. Dok je osjetljivost testova varijabilna, pouzdanost testova je najbolja u simptomatskih pacijenata i u prvih 5 dana od pojave simptoma. Razlog tomu je usporediva osjetljivost s NAAT testovima kada je najveća koncentracija virusa u uzorku i tada je vjerojatno da je osoba najinfektivnija (7).

Cilj tehničke radne skupine EU je ocjena prijedloga država članica i proizvođača za stavljanje COVID-19 antigenih testova na zajedničku listu odobrenih testova koja uključuje BAT čije su performanse temeljene na uzorcima iz nosa, nazofarinksa i orofarinksa, a ne iz sline, niti sadrži testove za samotestiranje. Od srpnja 2021. prijedlozi za ELISA (eng. *Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) testove mogu biti poslani i predani na ocjenjivanje za uvrštenje na listu odobrenih testova i validirani prema istim kriterijima (7).

BAT pripadaju skupini *in vitro* dijagnostičkih medicinskih proizvoda. Kako bi se proizvod stavio na EU tržište, treba ispunjavati potrebne zahtjeve koji su propisane Direktivom i dobiti

ocjenu sukladnosti kako bi imali oznaku CE. Potrebno je zadovoljiti tehničke performanse koje se potvrđuju posjedovanjem tehničke dokumentacije i provođenjem validacijskih studija (18).

Kod antigenskih testova namijenjenih za profesionalno korištenje, postupak određivanja sukladnosti provodi sam proizvođač te se na tržište RH stavljaju sukladno preporukama HZJZ. Druga skupina BAT su testovi za samotestiranje namijenjeni za osobnu upotrebu kod laika. Kako bi se dobila potvrda o sukladnosti, u postupak ocjenjivanja mora biti uključeno EU akreditirano tijelo (*Notified body*) koje je odobreno od nadležnog ministarstva ili regulatorne agencije. Izbor testova koji se koriste u nacionalnim zdravstvenim sustavima je individualna odluka svake države članice kao dio nacionalnih kompetencija za organiziranje zdravstvene usluge i medicinske skrbi te bi se trebali nalaziti na zajedničkoj listi BAT koju je odobrio HSC (18).

#### 4.2 Rezultati testiranja u Kliničkom zavodu za mikrobiologiju KBC Split

Prema prikupljenim podacima, u Kliničkom zavodu za mikrobiologiju i parazitologiju KBC Split 2020. i 2021. godine, provedena su ukupno 334 brza antigenska testa na antigene SARS-CoV-2 virusa u uzorcima nazofarinksa (tablica 1.)

Uočavamo značajnu razliku u broju testiranja unutar godinu dana; od 31 testa 2020. godine brojke su narasle na 303 testa u 2021. godini, što je porast od 9,8 puta. Ukupan udio pozitivnih testova je 16,5% dok je udio negativnih testova 83,5%. Iz tablice je vidljivo kako se udio pozitivnih u 2021. godini smanjio za više od 7 puta te je iznosio 4,0%, u odnosu na 29,0% pozitivnih u 2020. godini. Međutim, uzrok tako velikom smanjenju udjela pozitivnih slučajeva vjerojatno nije manji broj zaraženih nego značajno veći broj testiranih s negativnim nalazima.

**Tablica 1.** Prikaz rezultata svih BAT u 2020. i 2021 u KBC Split.

BAT	pozitivni	negativni	ukupno	Udio pozitivnih (%)	Udio negativnih (%)
2020.	9	22	31	<b>29,0</b>	<b>71,0</b>
2021.	12	291	303	<b>4,0</b>	<b>96,0</b>
ukupno	21	313	334	<b>16,5</b>	<b>83,5</b>

### 4.3.Uloga ljekarnika u COVID-19 pandemiji

Ljekarnici, kao i liječnici, morali su prilagoditi svoj način rada tijekom COVID-19 pandemije, kako bi osigurali prikladnu ljekarničku skrb i potporu pacijentima. Njihova uloga u kriznim zdravstvenim situacijama, kao što je pandemija, od velike je važnosti, jer su oni često prvi, a ponekad i jedini zdravstveni djelatnici s kojima pacijenti dolaze u kontakt, tražeći pouzdane informacije i savjet (19). Važno je naglasiti da se preporuke temelje na trenutnim spoznajama te da je nužno pratiti nove informacije što doprinosi boljoj adherenciji pacijenata (20). Tijekom pandemije, ljekarnici bi trebali promicati i provoditi propisane mjere za smanjenje širenja virusa, ali i skrbiti za redovitu opskrbu pacijenata njihovom trenutnom terapijom. Kao najdostupniji zdravstveni radnici, ljekarnici su pokazali da mogu vješto surađivati u javnozdravstvenom odgovoru na pandemiju, održavanjem kontinuiteta zdravstvene usluge i preuzimanjem dodatne odgovornosti kako bi se smanjio pritisak na ostala područja zdravstva. Ljekarnama je od jeseni 2020. ponuđeno više dijagnostičkih mogućnosti: prodaja BAT, prikupljanje uzoraka i slanje u partnerske laboratorije, prikupljanje uzoraka i obavljanje *point-of-care* testiranja te usluga cijepljenja. Uvođenjem brzog antigenskog *point of care* testiranja u ljekarne, osigurava se nadzor nad širenjem infekcije, što je puno prikladnije i održivije nego probir velikih razmjera (21).

#### 4.3.1 Testiranje u ljekarnama

Ugovoreni partneri Hrvatskog zavoda za zdravstveno osiguranje (HZZO), uključujući i ljekarne, dobili su odobrenje za obavljanje testiranja BAT testovima. Stoga je Hrvatska ljekarnička komora (HLJK) sastavila smjernice kojima određuje način provođenja i cijenu testiranja. Testiranja nisu obvezna za sve ljekarne te se mogu obavljati samo u onim jedinicama gdje su zadovoljeni potrebni kapaciteti u vidu prostora i osoblja. Termine testiranja i potreba za naručivanjem ovisi o pojedinim jedinicama. Pacijenti dolaskom u ljekarnu prvo ispunjavaju formular s potrebnim osobnim podacima kako bi se moglo izvijestiti o rezultatima testiranja. Korišteni testovi moraju imati dokaz da se nalaze na Zajedničkom popisu međunarodno priznatih brzih antigenskih testova (22).

Preporuke su da se testiranje provodi na otvorenom ili kroz prozor odnosno neki vanjski prostor gdje pacijent može sjesti, sa stolom za potreban pribor i upis podataka. U slučaju da je jedina opcija testiranje u zatvorenom, ta bi prostorija trebala služiti samo za tu svrhu ili se testiranje

može provoditi unutar ljekarne samo u dogovorenim terminima, nakon čega je potrebno prikladno čišćenje prostora. Također, testiranje je moguće obaviti izvan radnog vremena, ako se postigne takav dogovor. U prostorijama treba osigurati prikladnu ventilaciju i dezinfekciju površina. Uvjeti rada značajno se razlikuju od laboratorijskih pa je mogućnost pogrešnih (lažno pozitivnih) rezultata moguća te se testiranje mora provoditi pri sobnoj temperaturi i sniženoj vlažnosti (22).

Kako bi testiranje bilo sigurno za zdravstvenog djelatnika potrebno je osigurati zaštitnu opremu koja uključuje: rukavice, zaštitnu masku, ogrtač i vizir koji se moraju nositi za vrijeme uzimanja uzoraka, a rukovanje opremom je određeno pravilnim redoslijedom (22).

Oprema potrebna za pravilno uzorkovanje osim antigenskog testa uključuje stalak za epruvete, kantu za infektivni otpad, vodootporni flomaster i štopericu. Izvodi se prema uputama koje su navedene od strane proizvođača, štapićem se uzima uzorak nosa ili nazofarinksa, miješa s reagensom, a zatim se kapa određen broj kapi na testnu traku. Rezultati testiranja su dostupni unutar 15 minuta, a ako su dobiveni rezultati nejasni potrebno je načiniti novi test (22).

Kod visoke prevalecije bolesti, pozitivni rezultati uz prisustvo simptoma potvrda su postojanja COVID-19 infekcije. Podatke je potrebno poslati epidemiološkoj službi Županijskog zavoda za javno zdravstvo kako bi se omogućilo pravovremeno obavješćavanje kontakata. Sva testiranja moraju biti evidentirana u HZZO aplikaciji za upis rezultata. Farmaceuti i tehničari posjeduju pametnu karticu za pristupanje stranici. Osoba koja je pristupila testiranju može zatražiti izdavanje COVID potvrde, koja u slučaju negativnog nalaza vrijedi 2 dana od testiranja, uz plaćanje prema formiranoj cijeni. Važno je voditi brigu o zbrinjavanju nastalog infektivnog otpada, u koji spada sve što je korišteno u svrhu testiranja, kao što je zaštitna oprema, potrošni materijal i sami testovi, o čemu je potrebno voditi Očevidnik o nastanku i zbrinjavanju otpada. Prema temperaturi na kojoj se čuva spremnik, određuje se kada spremnik treba biti predan na obradu (22).

## **5.RASPRAVA**

Brza identifikacija i izolacija osoba inficiranih SARS-CoV-2, ključna je za pravovremenu i efikasnu kontrolu COVID-19 pandemije. Procedura mora biti osjetljiva, brza i jednostavna, s mogućnošću izvođenja u bilo kojoj zdravstvenoj ustanovi. Brzi antigenski testovi detektiraju virusne proteine koji nastaju replikacijom virusa u respiratornim sekretima, relativno su jeftini te jednostavni za izvođenje i interpretaciju. Ne zahtijevaju skupu aparaturu, može ih izvesti minimalno educirano zdravstveno osoblje, a rezultati su dostupni brže od PCR rezultata. Dosada je objavljen veliki broj evaluacijskih studija za vrednovanje brzih antigenski testova u dijagnostici SARS-CoV-2 infekcije. Tijekom prvog vala pandemije, BAT nisu imali dovoljno visoku osjetljivost i specifičnost pa se nisu preporučavali za otkrivanje novih slučajeva i potvrdu infekcije. Mnoge novije studije pokazuju značajan napredak i pouzdanost ovih testova. Otkako je FDA (eng. *Food and Drug Administration*) u ožujku 2020. godine odobrio uporabu prvog antigenog testa, više od 150 testova je dobilo odobrenje za uporabu (6, 23, 24).

Jedan od takvih testova je Clinitest Rapid COVID-19 Antigen Test (Siemens Healthcare), brzi *in vitro* antigenski test za kvalitativnu detekciju SARS-CoV-2 nukleoplazmidnih proteina u uzorcima nosa ili nazofarinksa, unutar tjedan dana od pojave simptoma, te je korišten u našem istraživanju (25). Prema dobivenim rezultatima, broj testiranja na antigene SARS-CoV-2 u KBC Split značajno je povećan u 2021. u odnosu na 2020. godinu. Razlog tomu je što je uzročnik infekcije otkriven tek početkom 2020. nakon čega je počeo ubrzani razvoj POC antigenih testova, što objašnjava tako malen broj od samo 31 prijavljenog testiranja. Povećanjem testiranja u bolnicama smanjuje se mogućnost izbijanja infekcije na pojedinim odjelima i daljnje širenje te se omogućava pravovremeno postavljanje dijagnoze radi primjene mjera liječenja i samoizolacije. Upotreba testova se temelji na rezultatima brojnih studija kojima su potvrđene zadovoljavajuće kliničke i analitičke karakteristike te čak bolje u odnosu na ostale dostupne komercijalne testove.

Istraživanje provedeno u Španjolskoj potvrdilo je dobre kliničke značajke testa u dijagnostici SARS-CoV-2 infekcije. Ispitivani uzorak je činilo 270 pacijenata sa simptomima bolesti u trajanju od najviše 5 dana ili asimptomatski kontakti unutar 7 dana. Svakom ispitaniku uzeta su po 2 uzorka, jedan za antigensko, a drugi za RT-PCR testiranje kao poredba. Zanimljivo, od 15 asimptomatskih pacijenata pozitivnih na RT-PCR, 5 ih je kasnije razvilo simptome i svi su bili pozitivni na BAT. Virusno opterećenje kod osoba pozitivnih na oba testa bilo je očekivano veće nego kod osoba pozitivnih samo na RT-PCR bez obzira na prisutstvo simptoma. Pokazano je

da je osjetljivost BAT veća kod simptomatskih bolesnika dok je specifičnost bila jednaka u obje skupine. Prema dobivenim podacima ovaj test zadovoljava kriterije predložene u smjernicama SZO (80% osjetljivost i 97% specifičnost) za simptomatske pacijente, testirane 5 dana od pojave simptoma. Performanse ovog testa su nezadovoljavajuće kod asimptomatskih pacijenata, bez obzira na mjere samoizolacije. Mogući razlozi su različita kinetika replikacije virusa u gornjem respiratornom traktu kod simptomatskih i asimptomatskih pacijenata, pogrešno vrijeme uzorkovanja te manji broj ispitanika u toj skupini (23).

Kako bismo mogli usporediti različite BAT, važno je prvo odrediti distribuciju Ct (eng. *Cycle threshold*) vrijednosti dobivenih RT-PCR metodom. To je semikvantitativna mjera za izračun virusnog opterećenja u uzorku (1). U slučaju detekcije virusa, potrebno je zabilježiti Ct vrijednost kako bi se ispravno interpretirali rezultati s obzirom na dobivene PCR nalaze. On predstavlja broj amplifikacijskih ciklusa potrebnih za detekciju virusa. Što je virusno opterećenje u uzorku manje, to je Ct vrijednost veća. Pacijenti s Ct iznad 30 uglavnom se smatraju neinfektivnima, dok je prema nekim studijama ta granica smanjena na 25.

U još jednom prospektivnom multicentričkom istraživanju, koje je provedeno u tri španjolske sveučilišne bolnice, ispitivane su kliničke performanse Simensovog ClinitestRT na SARS-CoV-2, u uzorcima nazofarinksa 450 pacijenata, kojima od pojave simptoma ili bliskog kontakta nije prošlo više od 7 dana. Svakom pacijentu uzeta su po dva uzorka, za BAT kao *point of care* i RT-PCR kao referentnu metodu. Rezultati su pokazali da je ukupna osjetljivost testa 93,3%, a specifičnost 99,2%. Osjetljivost je bila nešto viša 93,6% u pacijenata s nastupom simptoma unutar 5 dana, dok je između 6 i 7 dana bila 66,8%. U osoba s visokim virusnom opterećenjem, Ct<25, osjetljivost je 98,4%, a za Ct>25 iznosila je 80%, čime je dokazano da test ima zadovoljavajuće kliničke značajke s pouzdanijim rezultatima kod osoba s većim virusnim opterećenjem. Trinaest uzoraka dalo je lažno pozitivan rezultat, međutim svi su imali Ct>25 što pokazuje vrlo dobre kliničke karakteristike testa u identifikaciji akutne infekcije (25).

U sljedećoj studiji, cilj je bio evaluirati i usporediti kliničke karakteristike pet komercijalnih testova, 4 BAT i CLIA SARS-CoV-2 testa analizom 300 uzoraka nazofarinksa prikupljenih u simptomatskih pacijenata na bolničkom liječenju, kao referentna metoda korišten je RT-PCR. Nije bilo značajnih razlika u dobi, spolu, nastupu simptoma i Ct vrijednostima među grupama. BAT



evaluirani u ovoj studiji imaju visoku osjetljivost za detekciju SARS-CoV-2 u uzorcima s niskom Ct vrijednosti unatoč nižoj ukupnoj osjetljivosti u odnosu na RT-PCR. Osjetljivost veća od 90% je dokazana u uzorcima sa Ct<25 kod svih testova. CLINITEST i ROCHE su zadovoljili minimum koji zahtijeva SZO, osjetljivost >85% u usporedbi s RT-PCR u uzorcima s Ct<30. Vrijeme uzorkovanja je imalo značajan utjecaj na osjetljivost testa. SARS-CoV-2 je otkriven kod svih pacijenata s nastupom simptoma unutar 5 dana, a svaki sljedeći dan vodio je smanjenju osjetljivosti što se podudara s dosadašnjim istraživanjima. Pokazano je da BAT imaju značajno veću osjetljivost od CLIA testa za uzorke s Ct<25. Analiza pokazuje jaku inverznu korelaciju između Ct vrijednosti i osjetljivosti kod obje vrste testova. Negativni rezultati su bili češći kod CLIA testa za veće Ct vrijednosti. Svi testovi su pokazali 100% osjetljivost unutar 5 dana od pojave simptoma te je svim uzorcima s Ct<20 dokazana infekcija uporabom različitih testova. Također je dokazano da BAT imaju manju osjetljivost u žena, što nije bio slučaj s godinama pa je ženski spol uzet kao nezavisni faktor. Autori tvrde kako postoji mogućnost da muškarci i žene imaju različit protok sline, koji potencijalno utječe na virusno opterećenje. Drugo objašnjenje je da žene vjerojatno imaju manje ozbiljan nastup simptoma infekcije od muškarca s COVID-19 (24).

Dijagnostičke performanse uspoređivane su u studiji koja je uključivala šest različitih komercijalnih BAT u 130 uzoraka nazofarinksa u pacijenata sa sumnjom na COVID-19 infekciju ili su bili u bliskom kontaktu sa zaraženom osobom. Uzorci su prvotno testirani RT-PCR referentnom metodom za potvrdu dijagnoze i određivanje Ct vrijednosti pojedinog testa. Ukupna osjetljivost svih BAT je bila u rasponu od 65% do 79%, dok su četiri testa imala vrijednosti iznad 70%. Specifičnost je iznosila 100% što znači da nije bilo lažno pozitivnih rezultata. Veća osjetljivost je bila u uzorcima s Ct<25 te u pacijenata kod kojih su simptomi nastupili unutar tjedan dana. Siemensov test je pokazao najveću osjetljivost za pacijente s Ct<25. Kod visokog virusnog opterećenja Ct<25, osjetljivost je bila blizu ili iznad 90% dok je kod uzoraka s niskim opterećenjem Ct>25 značajno padala. Većina testova nije detektirala više od 15% uzoraka s Ct>25. Osjetljivost se mijenjala ovisno o broju dana proteklih od pojave simptoma. Uzorcima prikupljenima unutar tjedan dana od pojave kliničkih simptoma, osjetljivost je bila u rasponu od 79% do 95% (Siemens 88%), ali se smanjila do 45% nakon 7 dana jer se s odmakom bolesti smanjuje virusno opterećenje u simptomatskih pacijenata. Bolji rezultati testova su vidljivi u akutnoj infekciji (Ct<25 i <7 dana) što ih čini dobrim alatom za identifikaciju visoko infektivnih pacijenata. Rezultati su relevantni u

pogledu kontrole bolesti jer je pokazano da je mali udio pacijenata s vrlo visokim virusnim opterećenjem odgovoran za široku transmisiju infekcije (6).

Evaluirane su karakteristike 10 komercijalno dostupnih BAT u uzorcima nazofarinksa simptomatskih osoba, usporedbom s rezultatima PCR kao referentnom metodom. Ukupno je 1572 pacijenata sudjelovalo u istraživanju. Za svaki test određena je osjetljivost, specifičnost, točnost te pozitivna i negativna PV. Također su uspoređene Ct vrijednosti stvarno pozitivnih i lažno negativnih rezultata te je uočena značajna razlika. Vjerojatnost stvarno pozitivnih rezultata se smanjivala s povećanjem Ct vrijednosti za razliku od lažno negativnih rezultata. Ukupna osjetljivost testova bila je 56%, specifičnost 98%, PPV 94% i NPV 79%. Osjetljivost testova na 229 snažno pozitivnih uzoraka s  $Ct < 25$  bila je između 66,5% i 96% dok je za 369 pozitivnih uzoraka  $Ct < 30$  bila u rasponu od 58,6% do 89,8%. Ukupna osjetljivost Clinitesta na 99 uzoraka je bila 48%, a specifičnost 98%, dok je kod visoko pozitivnih osjetljivost narasla na 79%. Ograničenje studije je što je jedan od testova bio zastupljeniji u odnosu na ostale te je postojanje simptoma evidentirano samo za polovicu pacijenata (1).

Prema smjericama SZO i ECDC, karakteristike Clinitesta udovoljavaju njihovim zahtjevima. Studije podupiru kliničku uporabu Clinitesta u simptomatskih pacijenata unutar 5 do 7 dana od nastupa bolesti. Prethodne studije su pokazale nižu osjetljivost u asimptomatskih bliskih kontakata pa se ne bi trebali koristiti za probir asimptomatskih osoba na područjima niske prevalencije. Karakteristike BAT ovise o trenutnoj epidemiološkoj situaciji u ispitivanoj populaciji, dok upotreba i interpretacija rezultati ovise o lokalnim epidemiološkim faktorima. Stoga je prethodno potrebno odrediti prevalenciju bolesti, kako bi se odredile prediktivne vrijednosti. U područjima visoke prevalencije, pozitivni testovi imaju visoku prediktivnu vrijednost. Ako je NPV mala, pacijentima s respiratornim simptomima trebalo bi savjetovati ponovno testiranje u slučaju produljenja ili pogoršanja stanja (26).

Učinkovita strategija za kontrolu COVID-19 pandemije je razvoj visoko pouzdanih metoda za brzu identifikaciju i izolaciju SARS-CoV-2 inficiranih osoba. Mnogo kompanija i institucija nastoje razviti učinkovite metode za brzu detekciju RNK, antitijela, antigena ili cijelog virusa. Brzi antigenski testovi temeljeni na LFIA metodi nude mnogo prednosti u odnosu na molekulske metode, kao što je jednostavnost korištenja, manji troškovi i veća komercijalna proizvodnja pa su

korišteni diljem svijeta u pokušaju kontrole pandemije. Međutim, osjetljivost testa za točan probir pacijenata s COVID-19 je niska što je dovelo do razvoja naprednijih dijagnostičkih pristupa u detekciji SARS-CoV-2 infekcije. Osjetljivost LFIA metode je poboljšana uporabom novih nanomaterijala kao imunoloških oznaka kao što su kvantne točke, nanočestice s povećanjem konverzije i magnetske nanočestice. Stoga novi, obećavajući, visokoosjetljivi POCT imunosenzori, kao što su nanočestice koje emitiraju NIR (valne duljine bliske infracrvenom zračenju), LFIA na bazi magnetskih nanočestica i elektrokemijski biosenzori, zaslužuju daljnja istraživanje zbog svoje uloge u poboljšanju kliničkih i analitičkih performansi testova za detekciju SARS-CoV-2 antigena i virusnih čestica (27).

Kako bi se spriječila pojava novih valova epidemije, bilo je potrebno povećati broj testiranja u odnosu na prethodnu godinu, unatoč neospornoj važnosti kampanje cijepljenja koja je dovela do smanjenja broja pozitivnih slučajeva i težih oblika bolesti. Kako bi se zadovoljili testni kapaciteti izvan laboratorija, na mjestu pružanja skrbi pacijentu, antigenski testovi postali su nezamjenjiv alat, uz PCR kao zlatni standard u dijagnostici COVID-19. Opasnost od novih, visoko virulentnih sojeva koji potencijalno mogu izbjeći imunološki odgovor na cjepivo, indiciraju akutni rizik od novog vala pandemije. Rana dijagnostika je ključna za kontrolu širenja infekcije, pružanje adekvatne skrbi za pacijente te savjetovanje mjera zaštite za asimptomatske osobe.(1) Brzi antigenski testovi osiguravaju povoljniji način testiranja dostupan široj populaciji u osoba koje zadovoljavaju epidemiološke kriterije ili za *screening* program u zdravstvenim ustanovama, pregled dolazećih turista ili osiguravanje pristupa kulturnim događajima i mjestima povećanog rizika (6).

## **6. ZAKLJUČCI**

Brzi antigenski testovi su imonokromatografski POC testovi koji pružaju vrlo dobru osjetljivost i specifičnost u dijagnostici infekcije uzrokovane SARS-CoV-2 virusom.

Njihovo korištenje ima značajan utjecaj na strategiju testiranja u sprječavanju preopterećenja zdravstvenog sustava na vrhuncu pandemije i daljnjeg širenja zbog mogućnosti korištenja na mjestu potrebe za pojedinog pacijenta, bez složene opreme i stručnog osoblja uz brzu obradu uzorka i očitavanje rezultata.

Predstavljaju pouzdanu zamjenu za PCR metodu s visokom osjetljivošću u detekciji akutne COVID-19 infekcije kod pacijenata s vrlo visokim virusnim opterećenjem ili nastupom simptoma unutar sedam dana te kada je potrebno donošenje brzih odluka i provođenje mjera samoizolacije. Korisni su kao metoda probira simptomatskih osoba za bržu identifikaciju slučajeva i prekid transmisije virusa posebno u područjima visokog društvenog rizika te asimptomatskih osoba najčešće u javnim i zdravstvenim ustanovama korištenjem najpotentnijih testova kako bi se umanjile moguće statističke pogreške. Svakako, rezultati se moraju interpretirati u kontekstu trenutne epidemiološke situacije.

U KBC Split 2021. godine proveden je značajno veći broj testiranja u odnosu na prethodnu godinu, čemu su doprinijela nova saznanja o SARS-CoV-2 infekciji, razvoj specifičnih BAT i provođenje mjera zaštite za bolničke ustanove.

Uloga ljekarnika, nezamjenjiva je u savjetovanju pacijenata tijekom pandemije, pružanju cjelovite ljekarničke skrbi u zdravstveno sigurnim uvjetima, kao i u lako dostupnom, brzom i pouzdanom testiranju brzim antigenskim testovima.

## **7. POPIS CITIRANE LITERATURE**

1. Nóra M, Déri D, Veres DS, Kis Z, Barcsay E, Pályi B. Evaluating the field performance of multiple SARS-Cov-2 antigen rapid tests using nasopharyngeal swab samples. *PLoS One*. 2022 Feb 14;17(2):e0262399.
2. Cascella M, Rajnik M, Aleem A, Dulebohn SC, Di Napoli R. Features, Evaluation, and Treatment of Coronavirus (COVID-19). 2022 Jun 30. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-. PMID: 32150360.
3. Aleem A, Akbar Samad AB, Slenker AK. Emerging Variants of SARS-CoV-2 And Novel Therapeutics Against Coronavirus (COVID-19). 2022 May 12. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-. PMID: 34033342.
4. Hrvatski zavod za javno zdravstvo (HZJZ). Post-COVID vodič [Internet]. Donja Stubica: HZJZ; 2022 [citirano 17. rujna 2022.]. Dostupno na: [https://www.hzjz.hr/wp-content/uploads/2022/06/Post-covid\\_bros%CC%8Cura\\_165x235mm.pdf](https://www.hzjz.hr/wp-content/uploads/2022/06/Post-covid_bros%CC%8Cura_165x235mm.pdf)
5. Rahman S, Montero MTV, Rowe K, Kirton R, Kunik F Jr. Epidemiology, pathogenesis, clinical presentations, diagnosis and treatment of COVID-19: a review of current evidence. *Expert Rev Clin Pharmacol*. 2021 May;14(5):601-621.
6. Brooks GF, Carroll KC, Butel JS. *Medicinska mikrobiologija (Jawetz, Melnick i Adelberg)*. 26. izdanje. New York: McGraw-Hill; 2013. 864 str.
7. Mohamadian M, Chiti H, Shoghli A, Biglari S, Parsamanesh N, Esmaeilzadeh A. COVID-19: Virology, biology and novel laboratory diagnosis. *J Gene Med*. 2021 Feb;23(2):e3303
8. Petrosillo N, Viceconte G, Ergonul O, Ippolito G, Petersen E. COVID-19, SARS and MERS: are they closely related? *Clin Microbiol Infect*. 2020 Jun;26(6):729-734.
9. Boehm E, Kronig I, Neher RA, Eckerle I, Vetter P, Kaiser L; Geneva Centre for Emerging Viral Diseases. Novel SARS-CoV-2 variants: the pandemics within the pandemic. *Clin Microbiol Infect*. 2021 Aug;27(8):1109-1117
10. European Centre for Disease and Control. Options for the use of rapid antigen detection tests for COVID-19 in the EU/EEA – first update, 26 October 2021. Stockholm: ECDC; 2021.

11. Hrvatski zavod za javno zdravstvo (HZJZ). Smjernice [internet] Ministarstvo zdravstva; 2022. [citirano: 17. rujna 2022.]. Dostupno na: [https://koronavirus.hr/uploads/Smjernice\\_za\\_lijecenje\\_oboljelih\\_od\\_koronavirusne\\_bolesti\\_2019\\_COVID\\_19\\_verzija\\_5\\_od\\_08\\_veljace\\_2022\\_b7550c0754.pdf](https://koronavirus.hr/uploads/Smjernice_za_lijecenje_oboljelih_od_koronavirusne_bolesti_2019_COVID_19_verzija_5_od_08_veljace_2022_b7550c0754.pdf)
12. Primorac D, Perić V, Matišić V, Molnar V, Zadro R, Vince A, Lauc G, Polašek O. Rapid COVID-19 Antigen Testing in Croatia: Risk Perception Plays an Important Role in the Epidemic Control. *Front Public Health*. 2021 Jul 27;9:708907.
13. Ejaz H, Alsrhani A, Zafar A, Javed H, Junaid K, Abdalla AE, Abosalif KOA, Ahmed Z, Younas S. COVID-19 and comorbidities: Deleterious impact on infected patients. *J Infect Public Health*. 2020 Dec;13(12):1833-1839
14. Cui X, Zhao Z, Zhang T, Guo W, Guo W, Zheng J i sur. A systematic review and meta-analysis of children with coronavirus disease 2019 (COVID-19). *J Med Virol*. 2021 Feb;93(2):1057-1069.
15. Navero-Castillejos J, Casals-Pascual C, Narváez S, Cuesta G, Hurtado JC, Fernandez M i sur. Diagnostic Performance of Six Rapid Antigen Tests for SARS-CoV-2. *Microbiol Spectr*. 2022 Apr 27;10(2):e0235121
16. Wang JJ, Zhang N, Richardson SA, Wu JV. Rapid lateral flow tests for the detection of SARS-CoV-2 neutralizing antibodies. *Expert Rev Mol Diagn*. 2021 Apr;21(4):363-370.
17. Mahmoudinobar F, Britton D, Montclare JK. Protein-based lateral flow assays for COVID-19 detection. *Protein Eng Des Sel*. 2021 Feb 15;34:gzab010.
18. [citirano: 16. rujna 2022. ]. Dostupno na: [https://marketing.webassets.siemens-healthineers.com/bd670c78d37b3288/ae4048dfa7d4/40-21-DX-1074-76\\_POC\\_CLINITEST\\_Rapid\\_Covid-19\\_Antigen\\_SellSheet\\_FINAL.pdf](https://marketing.webassets.siemens-healthineers.com/bd670c78d37b3288/ae4048dfa7d4/40-21-DX-1074-76_POC_CLINITEST_Rapid_Covid-19_Antigen_SellSheet_FINAL.pdf)
19. Hrvatska agencija za lijekove i medicinske proizvode (HALMED). [citirano: 16. rujna 2022.] Dostupno na: <https://www.halmed.hr/COVID-19/Medicinski-proizvodi-/Brzi-antigeniski-testovi-za-detekciju-uzrocnika-bolesti-COVID-19-namijenjeni-za-samotestiranje/>
20. Hayden JC, Parkin R. The challenges of COVID-19 for community pharmacists and opportunities for the future. *Ir J Psychol Med*. 2020 Sep;37(3):198-203.



21. Merks P, Jakubowska M, Drelich E, Świeczkowski D, Bogusz J, Bilmin K i sur. The legal extension of the role of pharmacists in light of the COVID-19 global pandemic. *Res Social Adm Pharm.* 2021 Jan;17(1):1807-1812.
22. Strand MA, Bratberg J, Eukel H, Hardy M, Williams C. Community Pharmacists' Contributions to Disease Management During the COVID-19 Pandemic. *Prev Chronic Dis.* 2020 Jul 23;17:E69.
23. Hrvatska ljekarnička komora (HLJK). [citirano: 16. rujna 2022.] Dostupno na: <https://www.hljk.hr/pocetna/upute-za-provodjenje-testiranja-na-sars-cov-2-virus-u-ljekarnama-n254>
24. Merino-Amador P, González-Donapetry P, Domínguez-Fernández M, González-Romo F, Sánchez-Castellano MÁ, Seoane-Estevez A. Clinitest rapid COVID-19 antigen test for the diagnosis of SARS-CoV-2 infection: A multicenter evaluation study. *J Clin Virol.* 2021 Oct;143:104961.
25. Torres I, Poujois S, Albert E, Álvarez G, Colomina J, Navarro D. Point-of-care evaluation of a rapid antigen test (CLINITEST<sup>®</sup> Rapid COVID-19 Antigen Test) for diagnosis of SARS-CoV-2 infection in symptomatic and asymptomatic individuals. *J Infect.* 2021 May;82(5):e11-e12.
26. Seitz T, Lickefett B, Traugott M, Pawelka E, Karolyi M, Baumgartner S. Evaluation of Five Commercial SARS-CoV-2 Antigen Tests in a Clinical Setting. *J Gen Intern Med.* 2022 May;37(6):1494-1500.
27. Ji T, Liu Z, Wang G, Guo X, Akbar Khan S, Lai C, Chen H. Detection of COVID-19: A review of the current literature and future perspectives. *Biosens Bioelectron.* 2020 Oct 15;166:112455.

## **8.SAŽETAK**

**Cilj istraživanja:** Cilj istraživanja je opisati princip rada, postupak izvođenja i primjenu brzih antigenski testova u dijagnostici infekcije COVID-19 te usporediti učestalost pozitivnih i negativnih testova na SARS-CoV-2 u Kliničkom zavodu za mikrobiologiju i parazitologiju KBC Split u 2020. i 2021. godini.

**Materijali i metode:** U ovom retrospektivnom istraživanju pregledana je dostupna relevantna literatura koja se temelji na dosadašnjim kliničkim i epidemiološkim istraživanjima te podatci Kliničkoga zavoda za mikrobiologiju i parazitologiju KBC Split o provedenim brzim antigenskim testovima u dijagnostici infekcija uzrokovanih SARS-CoV-2 virusom u 2020. i 2021. godini. Brzi antigenski testovi korišteni za provođenje testiranja na SARS-CoV-2 virusne antigene bili su CLINITEST (Siemens), a kao uzorci uzimani su obrisci nazofarinksa. Podaci su obrađeni uz korištenjem programskog paketa Office 2007.

**Rezultati:** Brzi antigenski testovi su imonokromatografski POC testovi koji pružaju vrlo dobru osjetljivost i specifičnost u dijagnostici bolesti. Predstavljaju pouzdanu zamjenu za PCR metodu s visokom osjetljivošću u detekciji akutne COVID-19 infekcije kod pacijenata s Ct<25 ili nastupom simptoma unutar sedam dana te kada je potrebno donošenje brzih odluka i provođenja mjera samoizolacije. Korisni su kao metoda probira simptomatskih osoba za bržu identifikaciju slučajeva i prekid transmisije virusa te asimptomatskih osoba u područjima visokog rizika. U KBC Split 2020. i 2021. godine, provedena su ukupno 334 brza antigenska testa na antigene SARS-CoV-2 virusa, od čega 303 testa 2021. za razliku od 2020. kada je napravljen samo 31 test, što je porast od čak 9,8 puta. Ukupan udio pozitivnih testova je 16,50% (21) dok je udio negativnih testova 83,50% (313).

**Zaključak:** U KBC Split 2021. godine proveden je značajno veći broj testiranja u odnosu na prethodnu godinu čemu su doprinijela nova saznanja o SARS-CoV-2 infekciji, razvoj specifičnih BAT i provođenje mjera zaštite kako bi se spriječio proboj virusa u bolnički sustav. Testovi odobreni za uporabu moraju biti evaluirani prije stavljanja u promet kako bi zadovoljili zahtjeve koje postavlja WHO i EDCD te se potom stavljaju na zajedničku listu priznatih BAT.

## **9. SUMMARY**

**Diploma thesis title:** Rapid antigen tests (RAT) in diagnostics of SARS-CoV-2 infection.

**Objective:** The goal of the research is to describe the principle of operation, the procedure for performing and the application of rapid antigen tests in the diagnosis of COVID-19 infection, and to compare the frequency of positive and negative tests for SARS-CoV-2 in the Clinical Institute for Microbiology and Parasitology of KBC Split in 2020. and 2021.

**Material and methods:** In this retrospective study, available relevant literature based on previous clinical and epidemiological research and data from the Clinical Institute for Microbiology and Parasitology KBC Split on rapid antigen tests performed in the diagnosis of infections caused by the SARS-CoV-2 virus in 2020 and 2021 were reviewed. The rapid antigen tests used for detection SARS-CoV-2 viral antigens were CLINITEST (Siemens), and nasopharyngeal swabs were taken as samples. The data were processed using the Office 2007 software package.

**Results:** Rapid antigen tests are immunochromatographic POC tests that provide very good sensitivity and specificity in disease diagnosis. They represent a reliable substitute for the PCR method with high sensitivity in detection of acute COVID-19 infection in patients with Ct<25 or the onset of symptoms within seven days, also when it is necessary to make quick decisions and implement self-isolation measures. They are useful as a method of screening symptomatic persons for faster identification of cases and interruption of virus transmission, especially in areas of high risk and asymptomatic persons. In KBC Split in 2020 and 2021, a total of 334 rapid antigen tests for SARS-CoV-2 virus antigens were performed, of which 303 tests were performed in 2021, in contrast to 2020, when only 31 tests were performed, which is an increase of as much as 9,8 times. The total share of positive tests is 16.50% (21), while the share of negative tests is 83.50%.

**Conclusion:** In KBC Split in 2021, a significantly higher number of tests were conducted compared to the previous year, which was contributed by new knowledge about SARS-CoV-2 infection, the development of specific BAT and the implementation of protective measures to prevent the virus from entering the hospital system. Tests approved for use must be validated before being placed on the market to meet the requirements set by WHO and EDCD and then are placed on a common list of recognized BAT.

## **10. ŽIVOTOPIS**

## **Osobni podaci**

Ime i prezime: Marija Saratlija

Datum i mjesto rođenja: 2.9.1998., Split

Državljanstvo: hrvatsko

Adresa: Bakovići 19, Primorski Dolac 21227

Mobitel: 0958098597

E-mail: marija.saratlija9@gmail.com

## **Obrazovanje**

2005.-2013. Osnovna škola Primorski Dolac, Primorski Dolac

2013.-2017. Opća gimnazija Vladimir Nazor, Split

2017.-2022. Medicinski i Kemijsko-tehnološki fakultet Sveučilišta u Splitu, Integrirani preddiplomski i diplomski studij Farmacije

## **Ostalo**

Strani jezici: engleski jezik- aktivno, talijanski jezik- pasivno

Vozačka dozvola: B kategorija

Volontiranje u Studentskom katoličkom centru

Članica Kulturnog umjetničkog društva