

Verodostojnost testov na SARS-CoV-2

VPLIV KISLIN IN BAZ NA REZULTATE TESTIRANJA S
TESTI ZA SAMOTESTIRANJE NA SARS-CoV-2
RAZISKOVALNA NALOGA

APLIKATIVNI INOVACIJSKI PREDLOGI IN PROJEKTI



Avtor: Lara Pregelj

Mentor: Pavel Šet, prof.

Gimnazija Brežice

Trg izgnancev 14

8250 Brežice

Brežice, marec 2022

POVZETEK

V boju z virusom SARS-CoV-2 so farmacevtska podjetja razvila hitre antigenske teste, s katerimi se lahko testira tudi brez prisotnosti zdravstvenega osebja. Teste za samotestiranje so pogosto označevali kot nezanesljive, zato sem želela v svoji raziskovalni nalogi poudariti pomembnost uporabe medicinskih pripomočkov po navodilih proizvajalca. Testirala sem, kako se rezultate testov poneverja z dodajanjem kislin na testirno ploščico in kako pomemben je pufer za vzpostavljanje normalnega pH. Preizkusila sem tudi, kako na rezultate vplivajo baze.

Ključne besede: kisline, pufri, SARS-CoV-2, antigenski testi, baze

ABSTRACT

In the battle with SARS-CoV-2, pharmaceutical companies developed rapid antigen tests, which can be used without any medical assistance. They were frequently declared unreliable, and that is why I wanted to emphasize the importance of using a medical kit as instructed by the manufacturer. I tested how test results are bypassed by adding acids to the test cassette and how important the buffer is for maintaining a normal pH. I also examined how test results are affected by the bases.

Word key: acid, buffers, SARS-CoV-2, antigen test, base

1 Kazalo

1.1 Vsebina

POVZETEK	2
ABSTRACT	3
1 Kazalo	4
1.1 Vsebina	4
1.2 Kazalo slik	5
1.3 Kazalo tabel	5
2 UVOD	6
2.1 NAMEN NALOGE	6
2.2 HIPOTEZE	6
3 TEORETIČNA IZHODIŠČA	7
3.1 ZGODOVINSKI DEL	7
3.1.1 Zgodovina virusov	7
3.1.2 Zgodovina koronavirusov	7
3.1.3 Zgodovina SARS-Cov-2	8
3.2 BIOLOŠKI DEL	9
3.2.1 Biologija virusov	9
3.2.2 Biologija koronavirusov	10
3.2.3 Biologija SARS-CoV-2	10
3.3 TEHNOLOŠKI DEL	11
4 EKSPERIMENTALNI DEL	12
4.1 METODE DE LA	12
4.2 ZBIRANJE PODATKOV	15
5 RAZPRAVA	17
5.1 Analiza rezultatov	17
5.2 Potrditev hipotez	18
5.3 Uporabnost	18
6 ZAKLJUČEK	19
7 ZAHVALA	20
8 Bibliografija	21
9 Priloga	23

1.2 Kazalo slik

Slika 1: Pripomočki	13
Slika 2: Sestavni deli testnega kompleta	14
Slika 3: pH listič pomarančnega soka s pH 4	14
Slika 4: pH listič sode bikarbone s pH 9	14
Slika 5: Rezultati testov prve serije	16
Slika 6: Etiketa Coca-cole	17
Slika 7: Rezultati testov druge serije	23
Slika 8: Rezultati testov tretje serije	23
Slika 9: Rezultati testov četrte serije	24
Slika 10: Rezultati testov pete serije	24
Slika 11: Fotografija vseh testov	25
Slika 12: Rezultati testov prve serije z črno-belim filtrom	25
Slika 13: Rezultati testov druge serije z črno-belim filtrom	26
Slika 14: Rezultati testov tretje serije z črno-belim filtrom	26
Slika 15: Rezultati testov četrte serije z črno-belim filtrom	27
Slika 16: Rezultati testov pete serije z črno-belim filtrom	27
Slika 17: Rezultata obeh serij z dodanim radlerjem	28
Slika 18: Rezultata obeh serij z dodanim pomarančnim sokom	28
Slika 19: Rezultata serij z dodano raztopino citronske kisline	28
Slika 20: Fotografija rezultatov obeh serij z dodanim limoninim sokom	29
Slika 21: Fotografija rezultatov obeh serij z dodano coca-colo	29
Slika 22: Fotografija rezultatov obeh serij z dodano očetno kislino	29
Slika 23: Fotografija rezultatov obeh serij z dodanim radlerjem v črno-belem filtru	30
Slika 24: Rezultata obeh serij z dodanim pomarančnim sokom v črno-belem filtru	30
Slika 25: Rezultata obeh serij z dodanim limoninim sokom v črno-belem filtru	31
Slika 26: Fotografija rezultatov obeh serij z dodano raztopino citronske kisline v črno-belem filtru	31

1.3 Kazalo tabel

Tabela 1: Tabela ponudbe testov na spletnih lekarnah	15
Tabela 2: Tabela rezultatov prve serije	15
Tabela 3: Tabela rezultatov druge serije	15
Tabela 4: Tabela rezultatov tretje serije	15
Tabela 5: Tabela rezultatov četrte serije	15
Tabela 6: Tabela rezultatov pete serije	15
Tabela 7: Tabela rezultatov testiranja z različnimi kisljinami prve serije	16
Tabela 8: Tabela rezultatov testiranja z različnimi kisljinami druge serije	16

2 UVOD

Decembra 2020 je avstrijski poslanec Michael Schnedlitz sredi parlamentarne seje na mizo položil test za samotestiranje na COVID-19 in neposredno na testirno ploščico nakapal kokakolo. Test je čez nekaj trenutkov pokazal pozitiven rezultat. Schnedlitz je teste takoj obtožil za nezanesljive in njihov nakup označil za zapravljanje davkoplačevalskega denarja. Njegov »poskus« so ponovili številni posamezniki in posnetke delili na družbenih omrežjih. Pa so testi za samotestiranje na COVID-19 res tako nezanesljivi?

2.1 NAMEN NALOGE

Namen naloge je pojasniti omenjeno anomalijo nezanesljivosti in dokazati pomembnost sledenja navodilom proizvajalca pri izvajanju medicinskih testiranj ter pri drugih znanstvenih eksperimentih. Ko se navodil proizvajalca ne držimo, spremenimo nadzorovane spremenljivke in posledično lahko vplivamo na rezultate eksperimenta. Takšne napake se lahko dogajajo nehote, pogosto pa jih nekdo naredi namensko, da bi z rezultati manipuliral in s tem dosegel argument v svojo korist. Zato moramo vedno, ko pride do takšnih izstopanj, pomisliti na okoliščine, v katerih je bil poskus izveden.

V prvem delu eksperimenta sem preverjala, ali trditve o lažno pozitivnih testih res držijo. Če bi bili testi negativni ali neveljavni, bi se moje raziskovanje na tej točki končalo. Ob morebitnih pozitivnih rezultatih pa sem preverjala, zakaj do pozitivnih rezultatov sploh pride in ali bi bilo mogoče lažno pozitivne rezultate preprečiti. V zadnjem delu poskusa sem preverjala, ali na rezultate testov za samotestiranje vplivajo tudi baze.

2.2 HIPOTEZE

Preden sem začela z eksperimentalnim delom, sem si postavila tri raziskovalna vprašanja.

Raziskovalna vprašanja

1. Ali kisline vplivajo na rezultate testov za samotestiranje na SARS-CoV-2?
2. Ali s sledenjem navodilom proizvajalca in uporabo pufru preprečimo vpliv kislin na rezultate testov za samotestiranje na SARS-CoV-2?
3. Ali baze vplivajo na rezultate testov za samotestiranje na SARS-CoV-2?

Hipoteze

V prvi hipotezi predpostavljam, da bo rezultat testov za samotestiranje na SARS-CoV-2 ob nanosu kisline neposredno na testno ploščico pozitiven. To domnevam zato, ker v antigenskih testih virus zaznavajo protitelesa, ki so v osnovi beljakovine. Beljakovine lahko ob stiku s kislinami koagulirajo in tako izgubijo svoje običajne lastnosti.

V drugi hipotezi predpostavljam, da bo rezultat testov za samotestiranje na SARS-CoV-2 ob uporabi pufru negativen. To predvidevam zato, ker pufer nevtralizira kisline in baze na pH, pri katerem test najbolje deluje. Na beljakovinska protitelesa tako sprememba pH ne more vplivati.

V tretji hipotezi predpostavljam, da bo rezultat testov za samotestiranje na SARS-CoV-2 ob nanosu baze neposredno na testno ploščico pozitiven. To domnevam zato, ker v antigenskih testih virus zaznavajo protitelesa, ki so v osnovi beljakovine. Beljakovine ob stiku z bazami koagulirajo in tako izgubijo svoje običajne lastnosti.

3 TEORETIČNA IZHODIŠČA

3.1 ZGODOVINSKI DEL

3.1.1 Zgodovina virusov

Za prvi večji preboj v svetu virusov je poskrbel Edward Jenner, ki je leta 1798 objavil spis o cepljenju proti črnim kozam z virusom govejih koz. Njegovi predhodniki so v zdrave osebe vtirali kraste okuženega s črnimi kozami, vendar pa je bil tak postopek dokaj nevaren. Jenner je v zdrave osebe vtiril manj nevarnega sorodnika črnih koz, goveje koze. Postopek, ki ga je poimenoval vakcinacija, se je hitro razširil po svetu. WHO je leta 1965 objavil program pospešenega globalnega izkoreninjenja črnih koz in leta 1977 so v Etiopiji zabeležili še njihov zadnji primer. (Zimmer, 2021)

Naslednje odkritje je prišlo dobrih 100 let pozneje, ko je Louis Pasteur leta 1884 oslabil virus stekline, ne da bi poznal obstoj virusov. S svojimi poskusi je dokazal, da je povzročitelj »ultramikroskopičen« in da ga je mogoče gojiti s presajanjem v občutljiva tkiva laboratorijskih živali. (Likar, 1973)

Adolf Mayer je leta 1886 prvi opravljal poskuse z virusnimi boleznimi rastlin. Iskal je povzročitelja tobačnega mozaika in preučeval vpliv okolja. Kapilarne cevčice, napolnjene s sokom obolelih rastlin, je vbrizgal v zdrave rastline, ki so nato zbolele. Pri tem je prišel do napačnega zaključka, da tobačni mozaik povzroča bakterija. (Likar, 1973)

Georg Sternberg je leta 1892 dokazal, da vakcinacija povzroči nastajanje specifičnih protiteles in da ta nevtralizirajo virus. (Likar, 1973)

Leta 1898 sta Friedrich Löffler in I. Frosch spoznala, da Berkefeldovo cedilo prepušča virus, in dokazala, da se virus v gostitelju razmnožuje. Menila sta, da je količino virusa mogoče izmeriti glede na največjo razredčino materiala. (Likar, 1973)

Po prvi svetovni vojni se je raziskovanje sveta virusov nadaljevalo. Leta 1935 je Wendell M. Stanley kristaliziral virus tobačnega mozaika in dokazal, da so preparati infektivni. S tem je spodbudil biokemično prečiščevanje virusov, a je minilo še veliko let, preden so leta 1955 kristalizirali tudi živalski virus. Prav tako je leta 1935 M. Schlesinger opisal temeljne sestavine virusov. Dokazal je, da so bakteriofagi sestavljeni iz deoksiribonukleinske kisline in beljakovine; njegovo sporočilo je vodilo v sodobno eksperimentalno virologijo. Leta 1939 pa je Robert E. Shope odkril vlogo vmesnega gostitelja pri preživetju virusa v vmesnih obdobjih epidemije. (Likar, 1973)

Po vmesnem obdobju in po koncu druge svetovne vojne je svet začel bolje spoznavati svet virusov. Leta 1946 sta Max in Bailey Delbrück odkrila pojav genetske rekombinacije. Skupaj s Hersheyem so sestavili genetsko karto bakteriofaga. Rekombinacija ima izredno vrednost za genetske analize. Leta 1947 je Gernost Bergold ugotovil, da polihedri v virusu niso aktivni in služijo zgolj kot sredstvo za transport. Bil je tudi prvi, ki je mikroskopiral žuželčni virus pod elektronskim mikroskopom. Leta 1950 sta Kenneth M. Smith in Ralph W. G. Wyckoff ugotovila, da nekateri virusi vsebujejo DNK, drugi pa RNK. Opisala sta tudi, da so virusi z DNK navadno paličke v celičnih jedrih, medtem ko so tisti z RNK v citoplazmi inficirane celice. Leta 1952 sta A. D. Hershey in Martha Chase dokazala, da DNA prenaša ves potreben genetski material za razmnoževanje virusa. Leta 1959 sta S. Brenner in R. W. Horne vpeljala novo metodo barvanja preparatov, ki je povečala kontrastnost virusnih delcev. To je bil velik preboj v raziskovanju virusov. (Likar, 1973)

3.1.2 Zgodovina koronavirusov

Pri človeku so koronavirusi prvič odkrili leta 1965. Veljali so za nenevarne povzročitelje prehlada. (prof. dr. Mario Poljak, 2011)

Z nevarnejšim koronavirusom se je človeštvo srečalo v letu 2002. Novo respiratorno bolezen so opazili novembra 2002 v južni Kitajski, predvidoma naj bi izvirala iz mesta Foshan v provinci Guandong. Pacient 0 naj bi bil 46-letni moški, ki pa je po zdravljenju na intenzivni negi bolezen prebolel. Novembra in decembra 2002 se je število okuženih povečevalo, največ okužb je bilo med zdravstvenimi delavci. Spomladi 2003 se je bolezen z letalskim prometom razširila v Hongkong, Singapur, Toronto in Hanoj. Marca 2003 so odkrili virus, ki povzroča to bolezen, SARS-CoV. 11 tednov od prvega potrjenega bolnika v Hongkongu se je SARS-CoV razširil še v 27 drugih držav. Pandemija je dosegla svoj vrhunec maja 2003, 13. julija 2003 pa so potrdili še zadnji primer. Skupno se je s SARS-CoV okužilo 8096 ljudi, od tega jih je 774 umrlo. Največ primerov okužb, kar 66 %, so potrdili na Kitajskem. Virus naj bi na človeka preskočil s cibetovk. Zaradi neverjetnih globalnih prizadevanj in rekordnega časa izoliranja in sekvenciranja genoma SARS-CoV, je bilo epidemije konec po sedmih mesecih od njenega začetka. (Cherry, 2004)

2012 se je pojavil nov virus MERS (middle east respiratory syndrom). Že v začetku aprila so iz Jordanije poročali o pojavu novega virusa. Šele ob razvitem RT-PCR testiranju pa je zdravnik iz Savdske Arabije 20. 9. 2012 prijavil prvo izolacijo. Primarni viri okužbe so bili kmalu potrjeni v Združenih Arabskih Emiratih, Kuvajtu, Katarju, Jordaniji, Omanu in Savdski Arabiji, medtem ko so s potovanjem povezani primeri potrjeni tudi v Veliki Britaniji, Tuniziji, Franciji, Nemčiji in Italiji. 80 % vseh primerov je bilo potrjenih v Savdski Arabiji. Erasmus Medical Center je že novembra istega leta prikazal model celotnega genoma virusa MERS. Že avgusta naslednje leto so odkrili protitelesa v kamelah in netopirjih in tako ugotovili, da je imel virus več preskokov med vrstami. (Munster, 2014)

Pandemija MERS je po letu 2014 počasi upadala, še vedno pa na leto zabeležimo nekaj primerov. Znatno se je število okužb z MERS-om zmanjšalo v letih 2020-2022, kar je verjetno posledica novih koronavirusnih okužb. Do 16. 2. 2022 je bilo potrjenih 2585 primerov okužbe na štirih celinah, od tega je 931 ljudi umrlo. (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2022)

3.1.3 Zgodovina SARS-Cov-2

31. decembra 2019 so kitajske oblasti obvestile World Health Organization o pojavu pljučnice v mestu Vuhan. Število potrjenih okužb je hitro začelo naraščati, virus pa se je začel širiti tudi v druge države. 30. januarja 2020 je generalni direktor WHO Tedros Adhanom Ghebreyesus razglasil izbruh Cov-19 in v javnem zdravstvu izredne razmere mednarodnega pomena. Že v začetku februarja je nov virus presegel število smrtnih žrtev zaradi SARS-CoV ali MERS. 11. februarja je virus dobil tudi uradno ime: COVID-19. V koncu februarja je v Italiji močno naraščalo število potrjenih primerov in tako se je epicenter okužb v začetku marca prestavil v Evropo. V Sloveniji so prve okužbe potrdili 4. marca, WHO pa je morala zaradi naraščajočega števila primerov v različnih državah 11. marca razglasiti stanje epidemije. Aprila se je epicenter okužb iz Evrope preselil v Severno Ameriko. (Jenny Lei Ravelo, COVID-19 in 2020 — a timeline of the coronavirus outbreak, 2022)

23. aprila so prvim bolnikom preizkusno vbrizgali cepivo. V začetku maju je Rusija poročala o velikem porastu števila potrjenih primerov. 15. maja je WHO objavil poročilo o vsesistemskem vnetnem sindromu pri otrocih, okuženih s COVID-19. Število potrjenih primerov se je konec maja povečalo tudi v Braziliji. Poleti se je krivulja po vsem svetu izravnala, vendar so po vsem svetu beležili posamezne izbruhe okužb. 24. avgusta so potrdili prvi primer ponovne okužbe s COVID-19, kar je močno zamajalo trditve o čredni imunosti. 15. oktobra je SZO objavil vmesne rezultate študije in ugotovil, da zdravila remdesivir, hidroksiklorokin, lopinavir in interferon kljub trditvam mnogih ne prispevajo k blažjemu prebolevanju COVID-19. Ob koncu oktobra je v Evropi in Severni Ameriko prišlo do hitrega naraščanja števila okužb. Novembra so proizvajalci cepiv BioNTech, Pfizer, Moderna in Sputnik 5 ob študiji na koncu 3. faze razvoja objavili več kot 90-odstotno učinkovitost. Cepivo AstraZeneca je po dveh polnih odmerkih imelo 62-odstotno učinkovitost. 2. decembra je Združeno Kraljestvo kot prva država odobrilo uporabo cepiv BioNTech in Pfizer in tako 8. decembra kot prvo začelo s cepilno kampanjo, v kateri bi

najprej precepili delavce v zdravstvu in upokojskih domovih ter starejše od 80 let. 11. decembra je cepivo BioNTech in Pfizer odobrila tudi FDA. 14. decembra so iz Združenega kraljestva poročali o novi različici COVID-19, ki so ji kasneje nadeli ime alpha. 22. decembra je COVID-19 dosegel še zadnjo celino - Antarktiko. (Jenny Lei Ravelo, COVID-19 in 2020 — a timeline of the coronavirus outbreak, 2022)

Japonska je 11. januarja 2021 prijavila novo različico SARS-CoV-2. Različica beta je januarja in februarja prevladovala po državah v južni Afriki. To je vodilo k spremembi načrta cepljenja, saj je AstraZeneca proti tej različici le 22-odstotno učinkovita. Marca so se države odpovedovale cepivu AstraZeneca zaradi sumov, da povzroča krvne strdke. 30. marca je WHO objavil raziskavo, ki je poročala o prenosu SARS-CoV-2 iz netopirja prek vmesnega gostitelja na človeka. Aprila je evropska agencija za zdravila izdala poročilo, da so bili krvni strdki zelo redki stranski učinki in da je tveganje za hude stranske učinke manjše, kot pa je korist zaščite pred virusom, ki jo prinese cepivo. (Jenny Lei Ravelo, COVID-19 in 2021 — a timeline of the coronavirus outbreak, 2022)

V Indiji so bili v aprilu sredi smrtonosnega drugega vala, ko so dnevno podirali rekorde potrjenih okužb. Avgusta in septembra so se države začele pripravljati za poživitveni odmerek za zdravstvene delavce in starejše ljudi s kroničnimi boleznimi. 24. novembra so iz južne Afrike poročali o novi koronavirusni različici omikron, medtem ko je v Evropi divjala različica delta, ki je bila od vseh najbolj smrtonosna. Omikron je zelo dovzeten za mutacije, se hitro širi in je zato povzročil veliko zaskrbljenost s strani WHO. (Jenny Lei Ravelo, COVID-19 in 2021 — a timeline of the coronavirus outbreak, 2022)

2. januarja 2022 so v Izraelu potrdili hkratno okužbo z gripo in COVID-19, kar so poimenovali flurona. Po Evropi je v četrtem valu epidemije divjal omikron, ki je povzročil visoko število okuženih. Epidemična krivulja se je ob koncu februarja začela umirjati, prihodnost virusa pa ostaja neznana. (Jenny Lei Ravelo, COVID-19 — a timeline of the coronavirus outbreak, 2022)

V Sloveniji so do 4. 3. 2022 potrdili več kot 900 000 okužb z SARS-CoV-2, več kot 30 000 ljudi je bilo hospitaliziranih, 6341 ljudi pa je bitko s COVID-19 izgubilo. Največjo zasedenost v bolnišnicah smo zabeležili 26. 11. 2021, ko je prevladovala delta različica. Takrat je bilo na intenzivni terapiji 289 ljudi. Povprečno se je v EU cepilo 71,9 % prebivalstva, v Sloveniji pa komaj 58 %. Po svetu je bilo do 4. 3. 2022 potrjenih več kot 438 968 000 primerov okužbe, več kot 5 969 000 ljudi je bitko s COVID-19 izgubilo. (Lobe, 2022)

3.2 BIOLOŠKI DEL

3.2.1 Biologija virusov

Virusi so najmanjši »organizmi«, ki imajo genom. Veliki so od 20 do več kot 400 nm. Po obliki jih delimo na paličaste, poliedrične, spiralno zavite in kompleksno zgrajene. Virusni genom predstavljata ali DNK ali RNK, ki sta zaščiteni z beljakovinskim plaščem in včasih tudi z ovojnico. (Srečko Koren, 1998)

Osrednji del, kjer je shranjen virusni genom, se imenuje sredica. Vsebuje nukleinsko kislino in pogosto tudi beljakovine. Sredico obdaja beljakovinski plašč ali kapsida. Sestavljajo jo polipeptidi, ki jih kodira virusni genom. Večje skupine polipeptidov imenujemo kapsomere. Nekateri virusi imajo tudi zunanjo ovojnico, ki je sestavljena iz fosfolipidov celične membrane in virusnih beljakovin. Kadar so virusne beljakovine zožene in štrlijo iz virusne ovojnice, jih imenujemo peplomeri ali bodice. Ovojnične beljakovine so pogosto glikolizirane. Lahko delujejo kot encimi ali pa se pri vstopu v celico povezujejo s celičnimi receptorji. Med kapsido in ovojnico je včasih prisotna tudi neglikozilirana matrična beljakovina, ki virusu poveča kompaktnost. (Srečko Koren, 1998)

Na njihovo delovanje vplivajo toplota, sevanje, sprememba pH, svetloba, sušenje, detergenti, topila, oksidanti, encimi in nekateri ione in soli. Večini virusov se denaturirajo beljakovine pri temperaturi

55-60 °C. Virusi so najbolj obstojni v nevtralnem okolju, večina jih propade pri pH 5-6, izjema so virusi, ki se razmnožujejo v prebavilih. (Srečko Koren, 1998)^[66]

3.2.2 Biologija koronavirusov

Koronavirusi okužijo ljudi, ptice, govedo, pse in druge živali. Povzročajo okužbe dihal in gastroenteritis. Ime so dobili po značilnem pasu, ki obdaja virusno ovojnico (lat. *Corona* - krona). Družino *Coronaviridae* tvorita rodova *Coronavirus* in *Torovirus*. Človeški virusi spadajo v skupini *Alphacoronavirus* in *Betacoronavirus*. (prof. dr. Mario Poljak, 2011)

Virusna replikacija najpogosteje povzroči propad celic zgornjih dihal, ki mu sledijo večdnevno vnetje, edemi in izločanje sluzi v dihalne poti. Protitelesa se začnejo tvoriti v prvem tednu po okužbi in dosežejo vrh v drugem tednu po bolezni. Protitelesa so usmerjena predvsem proti površinski beljakovini S (ang. »Spike protein«). Ponovne okužbe se lahko pojavijo že po 4 mesecih, saj imunost kljub tvorbi protiteles ni trajna. (prof. dr. Mario Poljak, 2011)

Koronavirusi so razširjeni po vsem svetu in povzročajo prehlade, ki se običajno pojavljajo sezonsko v zimskih in pomladnih mesecih. Pogostost okužb je enaka v vseh starostnih skupinah, ne glede na spol. Strokovnjaki ocenjujejo, da so koronavirusi krivi za 5-15 % vseh prehladov. Prenašajo se kapljično, s tesnim stikom, s kontaminiranimi predmeti in fekalno-oralno. Inkubacija traja od 2 do 7 dni. Viruse bolniki začnejo izločati že ob prvih simptomih, izločanje pa traja do 4 dni. Koronavirusi izgubijo svojo infektivnost pri segrevanju na 56 °C in ob uporabi običajnih dezinfekcijskih sredstev. (prof. dr. Mario Poljak, 2011)

Človeški koronavirusi so okrogli virusi z ovojnico in največjim genomom med vsemi RNK virusi. Premer viriona (virion ali infektivni delec je popoln, zrel virusni delec, ki je zmožen okužiti celico in se nato v njen razmnoževati (Virion, 2017)) je med 120 in 220 nm. Genom tvori neseegmentirana, enovijačna, pozitivno polarna, infektivna molekula RNA. RNA ima na 5'-koncu kapo in je na 3'-koncu poliadenilirana (veriga adenina). V prvih dveh tretjinah 5'- konca je gen za replikacijo, ki je sestavljen iz dveh odprtih bralnih okvirjev ORF1a in ORF1b. Nekateri virusi imajo na tem mestu tudi beljakovino hemaglutinin esterazo. V zadnji tretjini so geni za strukturne beljakovine: gen za beljakovino bodice S, gen za ovojnično beljakovino E (ang. »E = envelope protein«), gen za membransko beljakovino M (ang. »membrane protein M«) in gen za beljakovino nukleokapside N (ang. »nucleocapsid protein«). Sledi 16 nestrukturiranih beljakovin, med katerimi imajo številne encimske aktivnosti. Koronavirusi imajo tudi popravljalne mehanizme, ki so posebnost virusov z dolgim RNA genomom. Na obeh koncih sta regiji, ki se ne prepisujeta. (prof. dr. Mario Poljak, 2011)

3.2.3 Biologija SARS-CoV-2

Zgodnji simptomi okužbe s COVID-19 so utrujenost, povišana telesna temperatura, suh kašelj in izguba vonja in okusa. Huda okužba se pojavi v 15 % primerov, smrtnost COVID-19 pa je ocenjena na 2 %. Za SARS-CoV-2 je značilna beljakovina S, ki se nahaja na zunanji membrani. Poleg njega virusna ovojnica obsega še strukturna proteina M in E, genom pa sestavlja strukturni protein N. Prav kompleksna zgradba naj bi pripomogla k vzdržljivosti virusa. Koničasti proteini, podobni proteinu S, ki štrlijo iz ovojnice, imajo ključno vlogo pri vstopanju virusa v celico z vezanjem na receptor ACE2. Po vezavi na ACE2 pride do okvare, ki virusu z endocitozo omogoči vstop v citoplazmo, kjer se začne replikacija. Tako kot drugi koronavirusi se tudi SARS-CoV-2 razmnožuje s pomočjo neprekinjene sinteze RNA. Svojo replikacijo začne v vohalnem epitelu nosne votline in svojo pot nadaljuje skozi sluznico proti pljučem. (Alan D. Kaye, 2020)

3.3 TEHNOLOŠKI DEL

Za kisline je značilno oddajanje protonov (H^+) vodi, pri čemer nastanejo oksonijevi ioni (H_3O^+). Za baze je značilno sprejemanje protonov (H^+), pri čemer nastanejo hidroksidni ioni. Razmerje med koncentracijo obeh ionov določa kislost ali bazičnost vodne raztopine, ki jo izražamo s pH-lestvico. (Iztok Tomažič, 2017)

Pufri so vodne raztopine, ki se upirajo spremembi pH ob dodatku manjših količin kislin ali baz. Vsebujejo šibko kislino in njeno konjugirano bazo ali šibko bazo in njeno konjugirano kislino. (Bogdan, 2014)

Poznamo tri vrste testiranja na COVID-19. Prvi način je iskanje genetskega materiala s pomočjo pomnoževanja nukleinske kisline (NAATs), ki ga imenujemo PCR-testiranje. Drugi način je iskanje protiteles, ki jih naše telo proizvede v boju z virusom. Tretji način je iskanje zunanje beljakovine virusne kapside. Ta način se imenuje antigensko testiranje. (Vismita Gupta-Smith, 2020)

Antigenski testi so testi lateralnega toka za kvalitativno zaznavanje nukleokapsidnega beljakovinskega antigena COVID-19 iz neposrednega anteriornega nosnega brisa. Antigen je mogoče zaznati v akutni fazi okužbe v predelu zgornjih dihal. Ko je pripravljeni vzorec brisa dodan v vdolbinico testa, začne vzorec lateralno teči po testnem lističu. Postopek reakcije traja 15 min. Hotgen komplet vsebuje navodila za uporabo, 5 sterilnih vatiranih palčk za jemanje brisa, 5 testnih naprav, vrečko za smeti za nevarne odpadke in 5 ekstrakcijskih epruvet s pufrom in konicami. Komplet vzdrži temperature 2-30 °C, pred uporabo pa ga je potrebno segreti na najmanj 15 °C. Splošna natančnost testa je 98,25-odstotna. (Hrobat, 2022)

Antigenski testi zaznajo virusni antigen z imobiliziranim prevlečenim protitelesom COVID-19 na testnem lističu. (Gannon CK Mak, 2020)

Antigenski testi so zgrajeni iz papirnatega traku, na katerem so tri črtice protiteles, ki nase vežejo druge beljakovine. Prva testna linija nase veže SARS-CoV-2 beljakovine, ki so pritrjene na molekulo detektorja. Drugo linijo sestavljajo podobna protitelesa, ki pa so na papirnati listič prilepljena. Zadnja linija, ki je tudi prilepljena na papirnati listič, pa nase ne veže SARS-CoV-2 beljakovin, temveč zlate nano-delce in opravlja vlogo kontrole. Ko tekočina steče po papirnatem lističu, se nekatere SARS-CoV-2 beljakovine vežejo s protitelesi in zlatimi nano-delci v prvi liniji in se potem na drugi liniji ujamejo; tam se nato črtica zaradi zlatih nano-delcev obarva rdeče. Ostali zlati nano-delci s tekočino potujejo naprej do tretje kontrolne črtice in se tam vežejo na protitelesa. (Lorch, 2021)

Citronska kislina je brezbarvna organska kislina s formulo $C_6H_8O_7$. Je trikarboksilna kislina, ki ima ključno vlogo v Krebsovem ciklu v vseh aerobnih organizmih. Zaradi svojih fizikalnih in kemijskih lastnosti se jo veliko uporablja v najrazličnejših sektorjih industrije. (Rosaria Ciriminna, 2017)

Koagulacija oz. nepovratna denaturacija beljakovin je pojav, ko se beljakovinam poruši terciarna in kvartarna zgradba. Z izgubo trodimenzionalne strukture beljakovina izgubi svoje biološke aktivnosti. Denaturacijo beljakovin povzročijo dvig temperature, sprememba Ph, sprememba koncentracije soli in drugi dejavniki okolja. (Iztok Tomažič, 2017)

4 EKSPERIMENTALNI DEL

4.1 METODE DE LA

Zastavljena raziskovalna vprašanja sem se odločila raziskati z eksperimentalnim pristopom. Pred izvedbo eksperimentalnega dela sem opravila pregled literature, ki je zajemala zgodovino raziskovanja in biologijo virusov ter kemijsko in tehnološko ozadje delovanja testov za samotestiranje na COVID-19. Na spletu sem preverila ponudbo testov in jih med seboj tudi primerjala. Testni komplet sem podrobno preučila in razstavila testno ploščico. Testni trak sem želela tudi mikroskopirati, vendar sem po pogovoru z mentorjem ugotovila, da to ne bo mogoče, ker je trak predebel za pregledovane pod presevnim mikroskopom, ki mi je na voljo. Po pregledu literature in opravljenih stranskih raziskavah sem se lotila eksperimenta.

Pripomočki:

- 15 kompletov testov za samotestiranje na SARS-CoV-2 proizvajalca Hotgen
- pipeta
- 2 posodici
- cedilo
- nož
- deska
- čajna žlička
- ožemalnik citrusov
- 1 pomaranča
- 3 čajne žličke sode bikarbone
- 5 ml vode
- lističi za merjenje pH
- termometer
- higrometer
- štoparica
- alkoholni flomastri
- elektronski pH meter
- očetna kislina
- kokakola
- limona
- kečap

15 testnih kompletov sem razdelila v skupine po 5, torej 5 ponovitev za vsak del eksperimenta. Po razmisleku sem se odločila, da za kislino uporabim pomarančni sok, za bazo pa raztopino sode bikarbone. Preden sem s poskusom začela, sem s termometrom in higrometrom preverila sobno temperaturo in vlažnost zraka. Pomarančo sem prerezala na pol in z ožemalnikom citrusov iz nje iztisnila sok. Sok sem precedila s cedilom, da bi se znebila trdnih delcev. V drugo posodico sem dala 3 čajne žličke sode bikarbone in dodala 5 ml vode. Raztopini sem dobro premešala. Z lističi za merjenje pH in z elektronskim pH metrom sem preverila kislost pomarančnega soka in bazičnost raztopine sode bikarbone. S kapalko sem na prvi test nakapala 3 kapljice pomarančnega soka, na drugi test pa 3 kapljice raztopine sode bikarbone. Za tretji test sem palčko za odvzem brisa iz nosu pomočila v pomarančni sok in jo nato 1 min (čas, naveden v navodilih testa) vrtela v steklenički s pufrom. Nato sem na testno ploščico nakapala 3 kapljice te tekočine. Vse tri testne ploščice sem označila s številko serije (1 kot prva serija), s črko za kislino, bazo ali mešanico kisline in pufre (K, B, ali P) in časom (v

minutah), ob katerem sem nakapala tekočino na testirno ploščico. Ob tem sem si nastavila štoparico na 15 min. Po tem času sem rezultate pregledala in jih fotografirala. Vse pozitivne rezultate sem zaradi boljšega kontrasta fotografirala tudi s črno-belimi filtrom. Palčke za jemanje brisa, stekleničke s pufrom in ostalo embalažo sem postavila ob rob mize in jih po končanem eksperimentiranju odvrгла, testne ploščice pa sem shranila v plastični vrečki. Poskus sem ponovila še štirikrat, tako da sem imela opravljenih 5 serij. Po tem poskusu sem želela preveriti, kako na rezultate testov za samotestiranje vplivajo različne snovi. Na teste sem nakapala kokakolo (pH 3,7), očetno kislino (pH 4), limonin sok (pH 2,7), kečap, radler (pH 4), raztopino citronske kisline (pH 4) in pomarančni sok (pH 4). Po 15 min sem rezultate odčitala in jih fotografirala. Poskus sem ponovila enkrat. Vsem kislinam sem z elektronskim pH-metrom preverila pH.



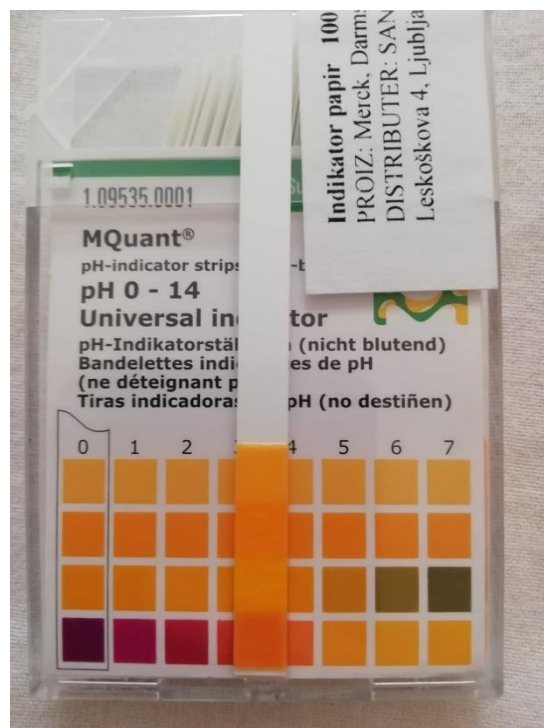
Slika 1: Pripomočki



Slika 2: Sestavni deli testnega kompleta



Slika 3: pH listič pomarančnega soka s pH 4



Slika 4: pH listič sode bikarbonate s pH 9

4.2 ZBIRANJE PODATKOV

Preverila sem ponudbo 4 spletnih lekarn in ugotovila, da je v ponudbi največkrat na voljo test Clinitest proizvajalca Siemens. Testi kompleti vsebujejo različno število testov, najbolj pogosto so pakirani posamično ali po 5 skupaj. Vsi testi so antigenski in za prikaz rezultatov potrebujejo najmanj 15 min. Lekarne imajo v svoji ponudbi tudi teste za samotestiranje protiteles na Covid-19. Podatke o ponudbi testov različnih proizvajalcev sem prikazala spodaj.

Tabela 1: Tabela ponudbe testov na spletnih lekarnah

www.lekarnar.com	www.lekarnajubljana.si	www.moja-lekarna.com	www.lekarnamackovec.si
Siemens	Siemens	Siemens	Siemens
Boson biotech	Boson Biotech	Biosynex	Boson biotech
Roche		Patris Health	Hotgen
Biosynex		Juschek	Biosynex
Hotgen		Alltest	
		Deep blue	

Sobna temperatura je bila pred začetkom izvajanja poskusa 22,3 °C, vlažnost zraka pa 38 %. Izmerjen pH pomarančnega soka je 4, pH sode bikarbone pa 9. Ob poteku reakcije sem opazila, da se je test, na katerega sem nakapala pomarančni sok, obarval oranžno, tisti, na katerega sem nakapala raztopino sode bikarbone, pa je imel ob odprtini neraztopljene drobce sode bikarbone. Pri rezultatih testov sem za pozitiven rezultat upoštevala vse rezultate, pri katerih sta bili črtici pri T (ang. »test«) in C (ang. »control«) vidni s prostim očesom. Upoštevala sem tudi rezultate, pri katerih črtica pri T ni bila zelo izrazita, saj tudi proizvajalec testa v navodilih navaja, naj za pozitiven rezultat upoštevamo tako dobro kot tudi slabo vidno črtico T. Za negativen rezultat sem upoštevala vse rezultate testov, na katerih črtica T ni bila vidna. Za neveljavne sem štela vse rezultate, pri katerih se nista pojavili ne črtica C ne črtica T. V spodnjih tabelah so prikazani rezultati testov. Fotografije vseh testov s črno-belimi filtrom in pri naravni svetlobi so v prilogi.

Tabela 2: Tabela rezultatov prve serije

Kislina I	Baza I	Kislina + pufer I
pozitiven rezultat	negativen rezultat	negativen rezultat

Tabela 3: Tabela rezultatov druge serije

Kislina II	Baza II	Kislina + pufer II
pozitiven rezultat	negativen rezultat	negativen rezultat

Tabela 4: Tabela rezultatov tretje serije

Kislina III	Baza III	Kislina + pufer III
pozitiven rezultat	negativen rezultat	negativen rezultat

Tabela 5: Tabela rezultatov četrte serije

Kislina IV	Baza IV	Kislina + pufer IV
pozitiven rezultat	negativen rezultat	negativen rezultat

Tabela 6: Tabela rezultatov pete serije

Kislina V	Baza V	Kislina + pufer V
pozitiven rezultat	negativen rezultat	negativen rezultat

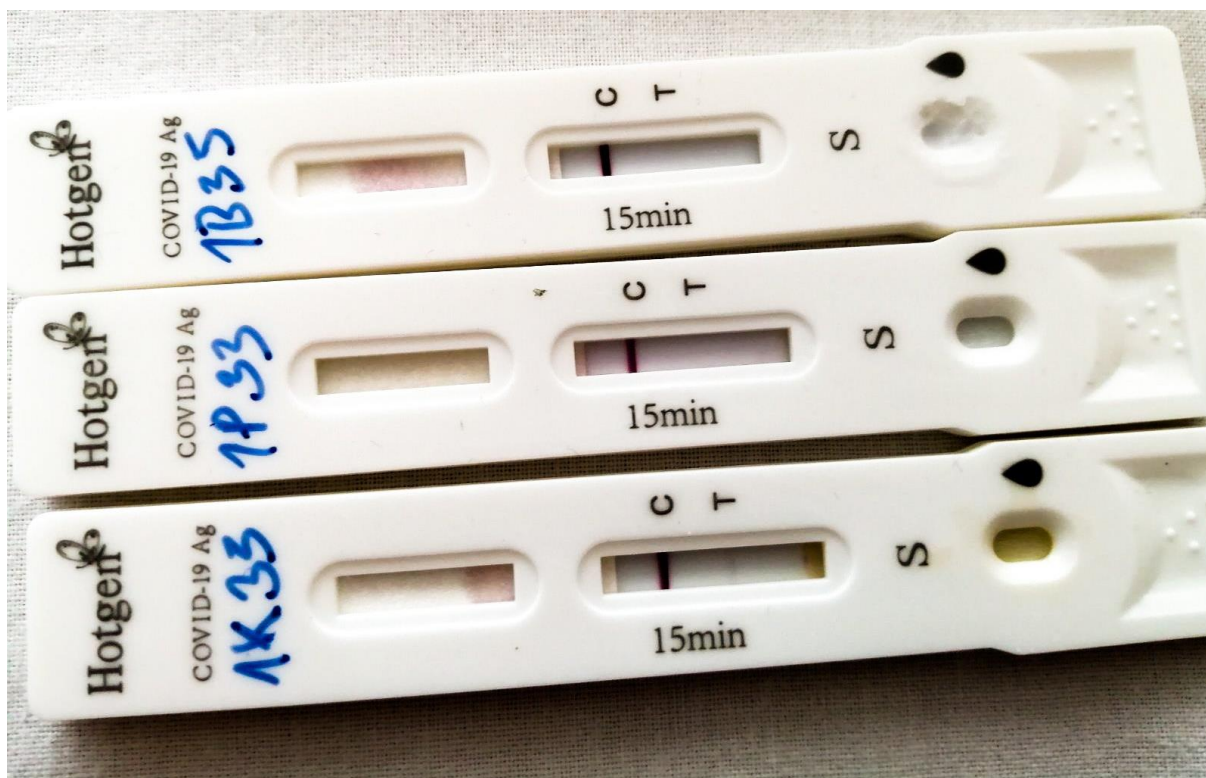
Pri poskusih z različnimi kislinami sem opazila, da močnejše kisline razbarvajo test in sta obe črtici blede, ob preveliki dozi pa se ne pojavi nobena črtica. Pri kečapu je bil rezultat neveljaven, saj je bil preveč gost in tekočina ni stekla po testnem lističu. V spodnji tabeli sem prikazala rezultate testiranja, v prilogi so slike pri naravni svetlobi in s črno-belim filtrom.

Tabela 7: Tabela rezultatov testiranja z različnimi kislinami prve serije

Pomarančni sok I	Limonin sok I	Radler I	Raztopina citronske kisline I	Kokakola I	Kečap I	Ocetna kislina I
pozitiven rezultat	pozitiven rezultat	pozitiven rezultat	pozitiven rezultat	negativen rezultat	neveljaven rezultat	negativen rezultat

Tabela 8: Tabela rezultatov testiranja z različnimi kislinami druge serije

Pomarančni sok II	Limonin sok II	Radler II	Raztopina citronske kisline II	Kokakola II	Kečap II	Ocetna kislina II
pozitiven rezultat	pozitiven rezultat	pozitiven rezultat	pozitiven rezultat	negativen rezultat	neveljaven rezultat	negativen rezultat



Slika 5: Rezultati testov prve serije

5 RAZPRAVA

5.1 Analiza rezultatov

V vseh petih ponovitvah poskusa so zaradi kisline najverjetneje koagulirala protitelesa in pokazala pozitiven rezultat. Črtica nad T je bila šibka, kar bi se lahko spremenilo z uporabo močnejše/šibkejše kisline ali testa drugega proizvajalca. Mislim, da bi nekdo drug lahko drugače interpretiral rezultate, zato bi bilo morda dobro opraviti slepi test. To pomeni, da bi rezultate pokazala nekomu, ki ne bi vedel, kateri test naj bi reagiral in kateri ne, ter mi povedal, kateri test ima po njegovem mnenju dve črtici in kateri eno. Mislim tudi, da bi bilo zato zanimivo preizkusiti, kako kisline vplivajo na teste različnih proizvajalcev, saj se ti med seboj razlikujejo po občutljivosti in točnosti. Za takšno raziskavo žal nisem imela sredstev. Menim, da bi bilo dobro postaviti mejo pH, pri katerem testi še delujejo normalno, in mejo, pri kateri še pokažejo pozitiven rezultat in se še ne razbarvajo. V predhodnih poskusih sem namreč ugotovila, da močne kisline test razbarvajo, tako da na njem ne vidimo nobene črtice. Opazila sem tudi, da je pri dodajanju tekočine na testno ploščico potrebno biti previden, saj se ob dodatku več kot štirih kapljic tekočin testni listek napije in ne pokaže nobenega rezultata. Mislim, da je bilo zelo pomembno, da sem na začetku poskusa preverila sobno temperaturo in vlažnost zraka, saj lahko sedaj izločim trditev, da so protitelesa koagulirala zaradi previsoke temperature. Prav tako je bilo zelo pomembno, da sem preverila pH pomarančnega soka, milnice in raztopine sode bikarbone, prvotno sem namreč namesto sode bikarbone želela uporabiti milnico, vendar pa je pH listič pokazal, da je imela milnica pH 3, torej je kislina. Zato sem namesto milnice uporabila vodno raztopino sode bikarbone. Kljub temu pa testi na bazo niso reagirali. Beljakovini se lahko sekundarna, terciarna in kvartarna zgradba rušijo različno pri različnih pH, pri čemer ni nujno, da vse denaturacije in koagulacije povzročijo pozitiven rezultat; ob rezultatih lahko le trdimo, da baza ne vpliva na obarvanost črtice, medtem ko je analiza mehanizmov daleč izven mojih denarnih zmogljivosti.

V drugem delu poskusa sem ugotovila, da testi proizvajalca Hotgen reagirajo samo na citronsko kislino, saj je bila le-ta skupna točka vseh pozitivnih rezultatov. Ustni vir (profesorica Maja Haler) je navedel, da dobimo pozitiven test tudi s sokom mandarine, ki prav tako vsebuje citronsko kislino. Presenetil me je negativen rezultat kokakole, vendar sem ob preučevanju etikete ugotovila, da omenjena pijača sploh ne vsebuje citronske kisline, temveč fosforjevo kislino. Nisem ugotovila, kako so ljudje na posnetkih dobili pozitiven rezultat s kokakolo, sklepam pa, da so uporabljali test drugačne znamke ali pa so pozitiven rezultat ponaredili in ga narisali z rdečo barvo. Dokončen dokaz, da je bila za lažno pozitivne rezultate kriva citronska kislina, bi zahteval tehnično bolj opremljen laboratorij, z dokazovanjem pa bi lahko celo posegla v patent podjetja. Ob prebiranju različnih člankov na to temo sem zasledila, da lahko na podoben način ponaredimo tudi nosečniški test, ki reagira na hormon hCG. Zanimivo bi bilo preveriti tudi to trditev.



Slika 6: Etiketa Coca-cola

5.2 Potrditev hipotez

Na začetku načrtovanja raziskovalne naloge sem oblikovala tri hipoteze.

V prvi hipotezi sem predvidela, da bo rezultat testov za samotestiranje na SARS-CoV-2 ob dodatku kisline neposredno na testno ploščico pozitiven. Ta hipoteza je potrjena, saj je bilo vseh 5 ponovitev poskusa pozitivnih. Rezultati testov so bili sicer v nasprotju z mojim predvidevanjem zelo nejasni, črtica T je bila zelo slabo vidna. Kljub temu sem rezultate upoštevala kot pozitivne, saj tudi proizvajalec navaja, da je rezultat testa pozitiven, če je črtica vidna s prostim očesom. S tem sem dokazala, da kisline vplivajo na rezultate testov za samotestiranje na SARS-CoV-2. Pri tej hipotezi moram dodati opombo, da so bili testi pozitivni samo v primeru, če smo nanje nanесли citrónsko kislino, fosforna kislina in očetna kislina s testom nista reagirali.

V drugi hipotezi sem predvidela, da bo rezultat testov za samotestiranje na SARS-CoV-2 ob dodatku mešanice pufra in kisline negativen. Ta hipoteza je potrjena, saj je bilo vseh 5 ponovitev poskusa negativnih. S tem sem dokazala, da se z uporabo pufra izognemo lažno pozitivnim rezultatom, in poudarila pomembnost upoštevanju navodil proizvajalca.

V tretji hipotezi sem predvidela, da bo rezultat testov za samotestiranje na SARS-CoV-2 ob dodatku baze neposredno na test pozitiven. Ta hipoteza je ovržena, saj je bilo vseh 5 ponovitev poskusa negativnih. Menim, da ob rezultatih lahko le trdimo, da baza ne vpliva na obarvanost črtice.

5.3 Uporabnost

Moja raziskovalna naloga je podprla trditve proizvajalcev, da se ob uporabi pufra, torej ob upoštevanju navodil, lažno pozitivni rezultati ne pojavljajo (oziroma se ne pojavljajo pogosteje, kot navajajo njihovi podatki). Rezultati, ki sem jih dobila pri eksperimentiranju, predstavljajo jasen dokaz, kaj se zgodi, če se teh navodil ne upošteva. Vedno, kadar sami izvajamo kakršne koli medicinske meritve (merjenje srčnega utripa, merjenje sladkorja v krvi, merjenje telesne teže ...), moramo najprej prebrati navodila in se ob nejasnih in nerazumljivih rezultatih posvetovati s strokovnjaki. Proizvajalec v navodilih jasno navaja obvezno uporabo pufra, vendar menim, da bi bilo dobro, da bi opredelil tudi snovi, ki lahko vplivajo na rezultat testa. Če bi ljudje že pred izbruhom diskreditacij legitimnih testov s »trditvami o okuženih pomarančah« vedeli, da lahko določene snovi, kot je citrónska kislina, vplivajo na rezultate testov, tem poskusom ovračanja znanosti ne bi verjeli. Menim, da je dolžnost vsakega proizvajalca medicinskih pripomočkov, da uporabnike še posebej opozori na določene posebnosti svojih izdelkov. Testi za samotestiranje so bili razdeljeni med splošno prebivalstvo, ki je zaradi pomanjkanja naravoslovnega znanja še posebej ranljivo za takšna zavajanja. Priložena navodila so bila sicer prilagojena predznanju povprečnega uporabnika, vendar menim, da še vedno obstajajo načini, kako bi jih lahko še bolj prilagodili in se tako izognili širjenju nezaupanja v uveljavljeno znanost.

6 ZAKLJUČEK

Za to raziskovalno nalogo sem se odločila, ker me je motilo označevanje testov za samotestiranje na SARS-CoV-2 za nezanesljive na podlagi nenavadnih in predvsem neznanstvenih poskusov. Še vedno mislim, da so testi za samotestiranje ob upoštevanju navodil proizvajalca zanesljivi, težava pa se pojavi, ko navodil proizvajalca ne upoštevamo. Menim, da je na nas samih, da tako teste za samotestiranje na SARS-CoV-2 kot tudi druge medicinske pripomočke uporabljamo v skladu s predpisi. Lažni rezultati namreč ne pripeljejo do resničnih ugotovitev, ki bi nam lahko pomagale pri izboljšanju našega počutja in varovanju zdravja naših bližnjih. Ob raziskovanju zgodovine virusov sem presenečeno ugotovila, kako mlada je ta veda. Zelo zanimiv se mi je zdel pojav treh smrtonosnih koronavirusov v razmaku 20 let, potem ko so koronavirusi dobrih 30 let veljali za neškodljive povzročitelje prehlada. Z raziskovanjem biološkega in tehnološkega dela teorije sem izboljšala svoje razumevanje virusov in delovanja testov za samotestiranje. Oblikovanje raziskovalne naloge je bila zame izkušnja, ki mi bo zagotovo prišla prav tudi v prihodnosti.

7 ZAHVALA

Zahvaljujem se staršem za vso podporo in denarno pomoč pri izvedbi moje raziskovalne naloge.

Zahvaljujem se sošolkam Anji Semenič, Ani Lackovič in Piji Boh za njihovo mnenje o raziskovalni nalogi.

Zahvaljujem se profesorici Tei Habinc, ki me je spodbujala pri pisanju raziskovalne naloge in me podprla v tehničnem smislu, profesorici Jani Krmpotič za lektoriranje povzetka v angleščini in profesorici Barbari Zorko za lektoriranje raziskovalne naloge.

Zahvaljujem se Janku Šetu za mnenje o raziskovalni nalogi.

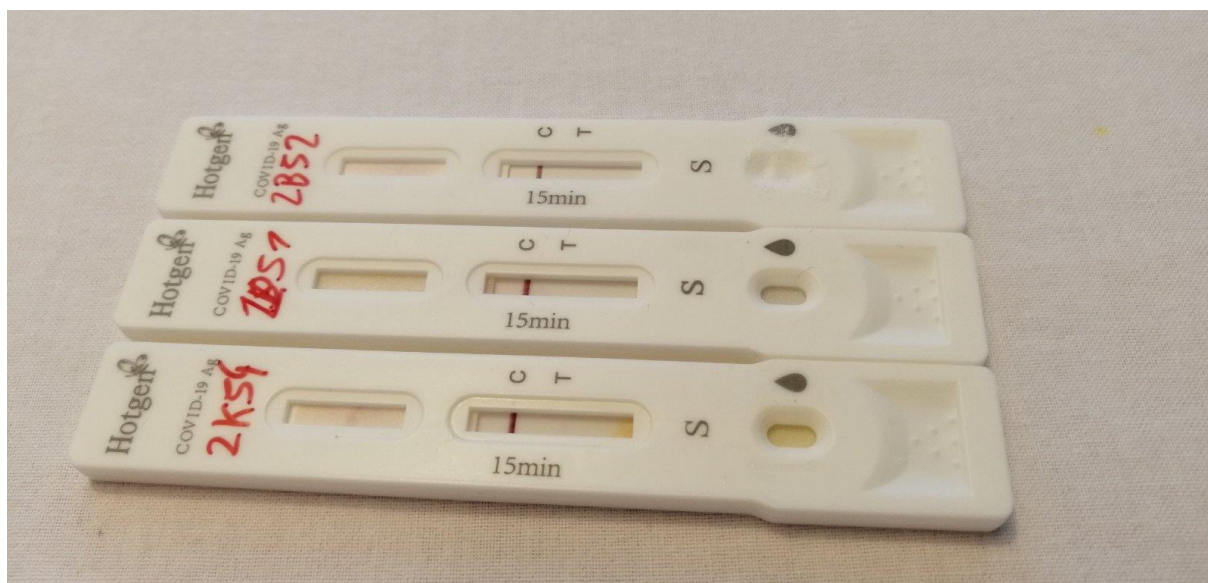
Največja zahvala gre mojemu mentorju, profesorju Pavlu Šetu, za njegovo prizadevnost, podporo in čas, ki ga je posvetil mojemu raziskovalnemu delu.

8 Bibliografija

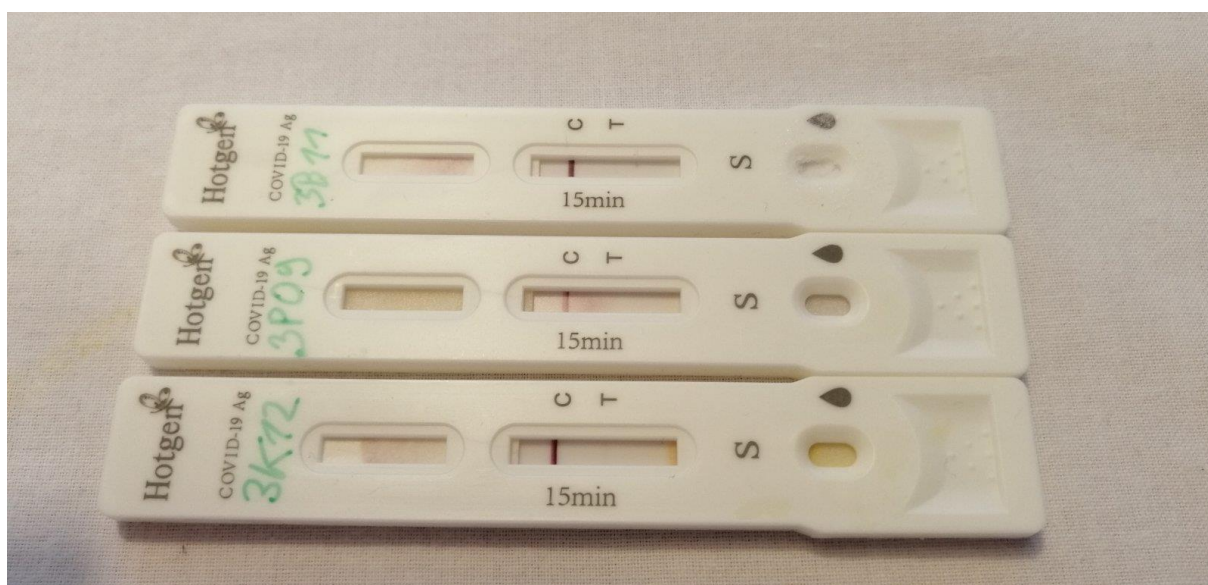
- Alan D. Kaye, E. M. (8. 12 2020). *Biology of COVID-19 and related viruses: Epidemiology, signs, symptoms, diagnosis, and treatment*. Pridobljeno 26. 3 2022 iz National Library of Medicine: [Biology of COVID-19 and related viruses: Epidemiology, signs, symptoms, diagnosis, and treatment](#)
- Bogdan, H. (2014). *Vpliv pufrskih sistemov na "in vitro" sproščanje zdravilnih učinkov iz trdnih farmacevtskih oblik*. Ljubljana: Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo.
- Cherry, J. D. (5. 11 2004). *The chronology of the 2002–2003 SARS mini pandemic*. Pridobljeno 3. 3 2022 iz US National Library of Medicine: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7106085/>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (16. 2 2022). *MERS-CoV situation update*. Pridobljeno 2. 3 2022 iz Food and Agriculture Organization of the United Nations: https://www.fao.org/ag/againfo/programmes/en/empres/mers/situation_update.html
- Gannon CK Mak, * P. (28. 6 2020). *Evaluation of rapid antigen test for detection of SARS-CoV-2 virus*. Pridobljeno 24. 3 2022 iz National Library of Medicine: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7278630/>
- Hrobat, D. (2022). Pridobljeno 23. 3 2022 iz lekarnar.com: <https://www.lekarnar.com/>
- Iztok Tomažič, P. Z. (2017). *Biologija 1*. Ljubljana: Mladinska knjiga. Pridobljeno 23. 3 2022
- Jenny Lei Ravelo, S. J. (4. 3 2022). *COVID-19 — a timeline of the coronavirus outbreak*. Pridobljeno 5. 3 2022 iz Devex: <https://www.devex.com/news/covid-19-a-timeline-of-the-coronavirus-outbreak-96396>
- Jenny Lei Ravelo, S. J. (20. 1 2022). *COVID-19 in 2020 — a timeline of the coronavirus outbreak*. Pridobljeno 3. 3 2022 iz Devex: <https://www.devex.com/news/covid-19-in-2020-a-timeline-of-the-coronavirus-outbreak-99634>
- Jenny Lei Ravelo, S. J. (20. 1 2022). *COVID-19 in 2021 — a timeline of the coronavirus outbreak*. Pridobljeno 5. 3 2022 iz Devex: <https://www.devex.com/news/covid-19-in-2021-a-timeline-of-the-coronavirus-outbreak-102417>
- Lekarna Mačkovec. (15. 3 2022). Pridobljeno iz lekarnamackovec.si: <https://www.lekarnamackovec.si/>
- Likar, d. M. (1973). *Splošna virologija*. Ljubljana: Mladinska knjiga. Pridobljeno 28. 2 2022
- Lobe, Š. (4. 3 2022). 24ur. *Dve leti epidemije COVID-19*. (M. Plementaš, Ured.) Ljubljana, Ljubljana, Slovenija: POP TV.
- Lorch, M. (6. 7 2021). *How children are spoofing Covid-19 tests with soft drinks*. Pridobljeno 30. 3 2022 iz BBC FUTURE: <https://www.bbc.com/future/article/20210705-how-children-are-spoofing-covid-19-tests-with-soft-drinks>
- Lukanc Tanja, L. M. (2022). Pridobljeno 23. 3 2022 iz mojalekarna: <https://www.moja-lekarna.com/>

- Munster, V. J. (9. 4 2014). *The emergence of the Middle East Respiratory Syndrome coronavirus*. Pridobljeno 2. 3 2022 iz US National Library of Medicine: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4106996/>
- prof. dr. Mario Poljak, d. m. (2011). *Medicinska virologija*. (d. m. prof. dr. Mario Poljak, Ured.) Ljubljana: Medicinski razgledi.
- Rosaria Ciriminna, F. M. (8. 3 2017). *Citric acid: emerging applications of key biotechnology industrial product*. Pridobljeno 30. 3 2022 iz BMC Chemistry: <https://bmchem.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13065-017-0251-y>
- Sedej, M. (2018). Pridobljeno 30. 3 2022 iz lekarnaljubljana.si: <https://www.lekarnaljubljana.si/>
- Srečko Koren, T. A. (1998). *Splošna medicinska virologija*. Ljubljana: Medicinski razgledi.
- Virion*. (21. 2 2017). Pridobljeno iz Wikipedija: <https://sl.wikipedia.org/wiki/Virion>
- Vismita Gupta-Smith, H. B. (27. 11 2020). *Science in 5*. Pridobljeno 24. 3 2022 iz World Health Organization: https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/media-resources/science-in-5/episode-14---covid-19---tests?gclid=Cj0KCQiArt6PBhCoARIsAMF5wagQpVb--TzSn4qyFJSYmGQdNPUMyMegZTs0T_nwRwkMrwSYWmhxKm8aAsNNEALw_wcB
- Zimmer, C. (2021). *Planet virusov: Tretja izdaja*. (A. Poznič, Prev.) Brežice: Primus d.o.o. Pridobljeno 28. 2 2021

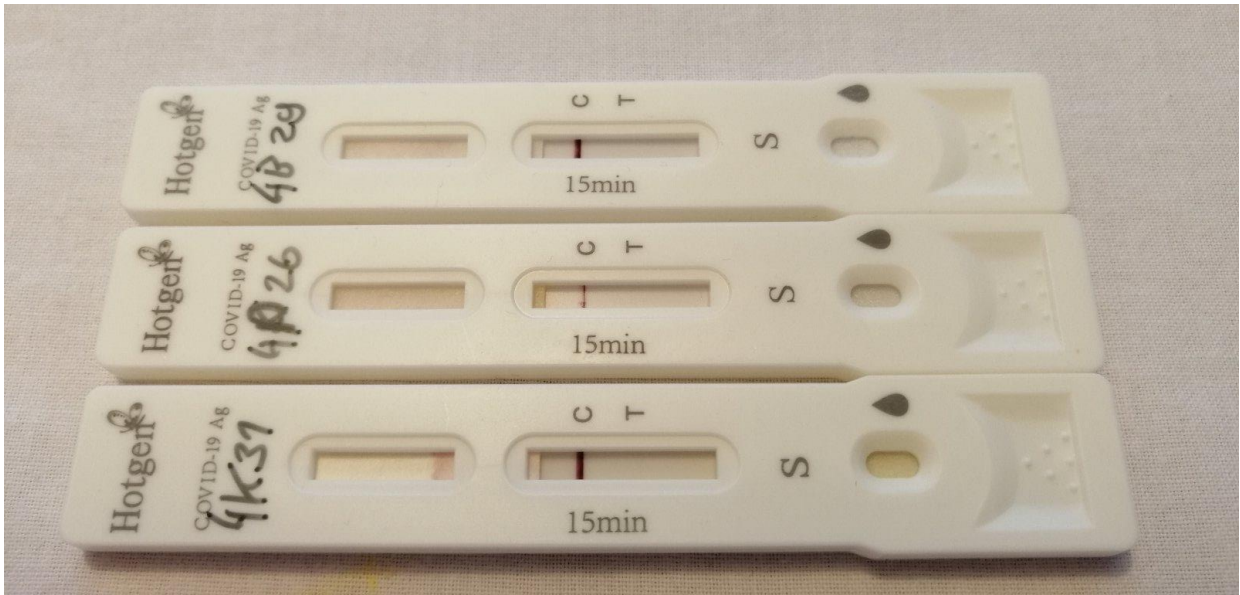
9 Priloga



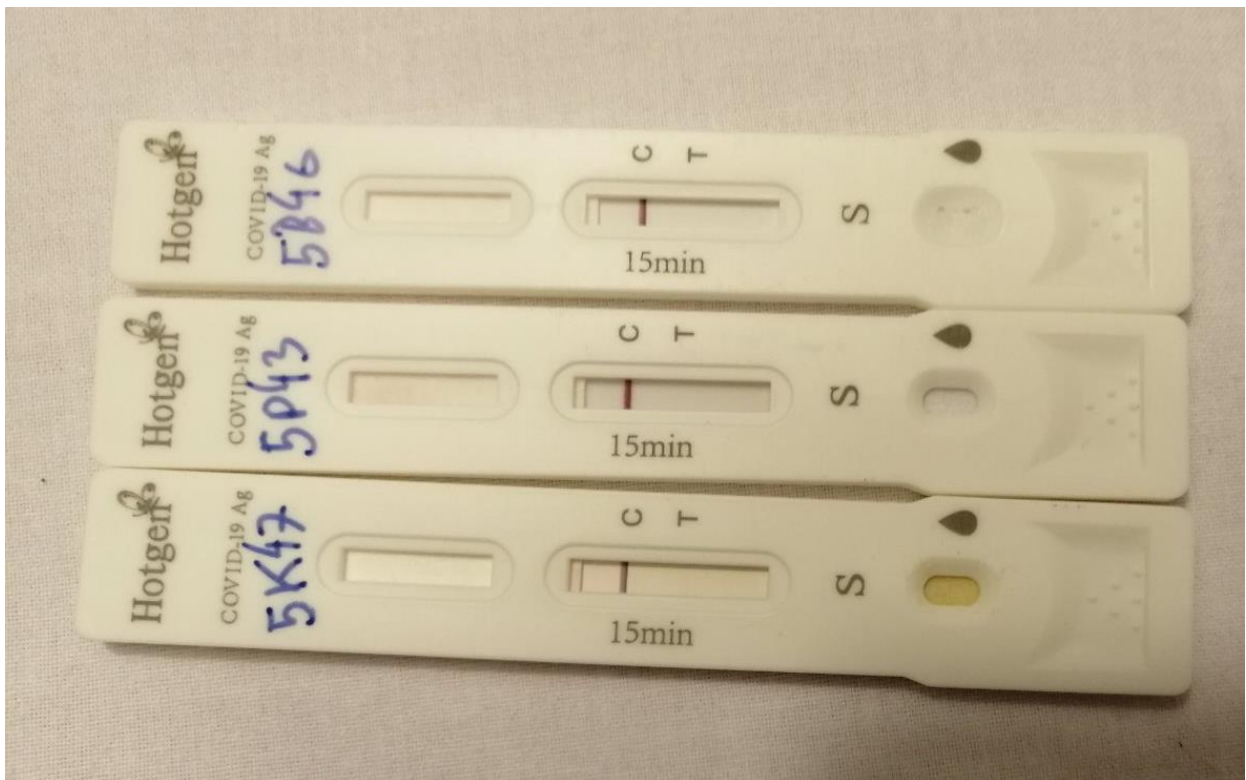
Slika 7:Rezultati testov druge serije



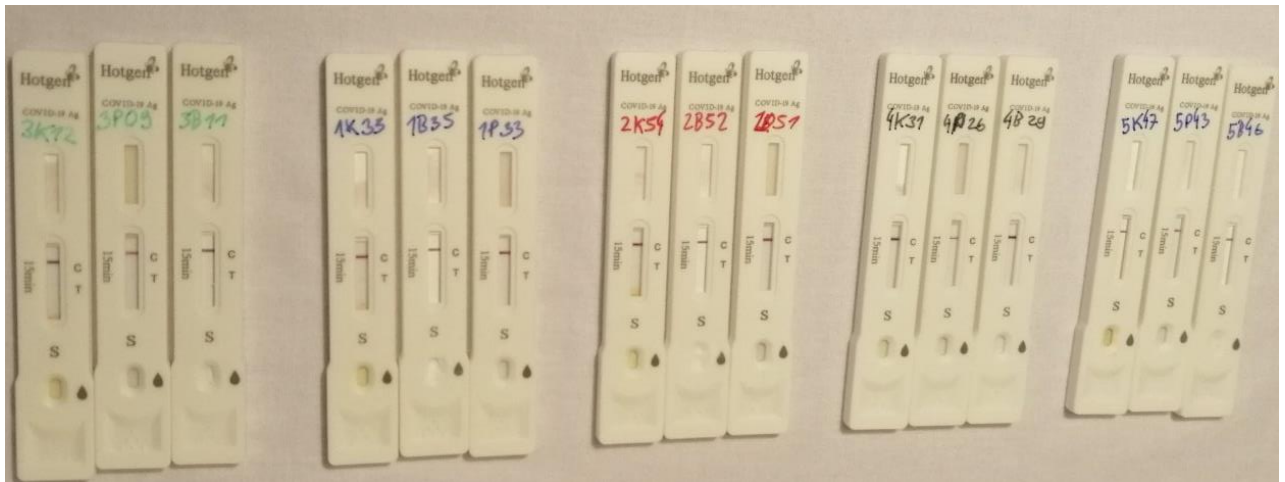
Slika 8:Rezultati testov tretje serije



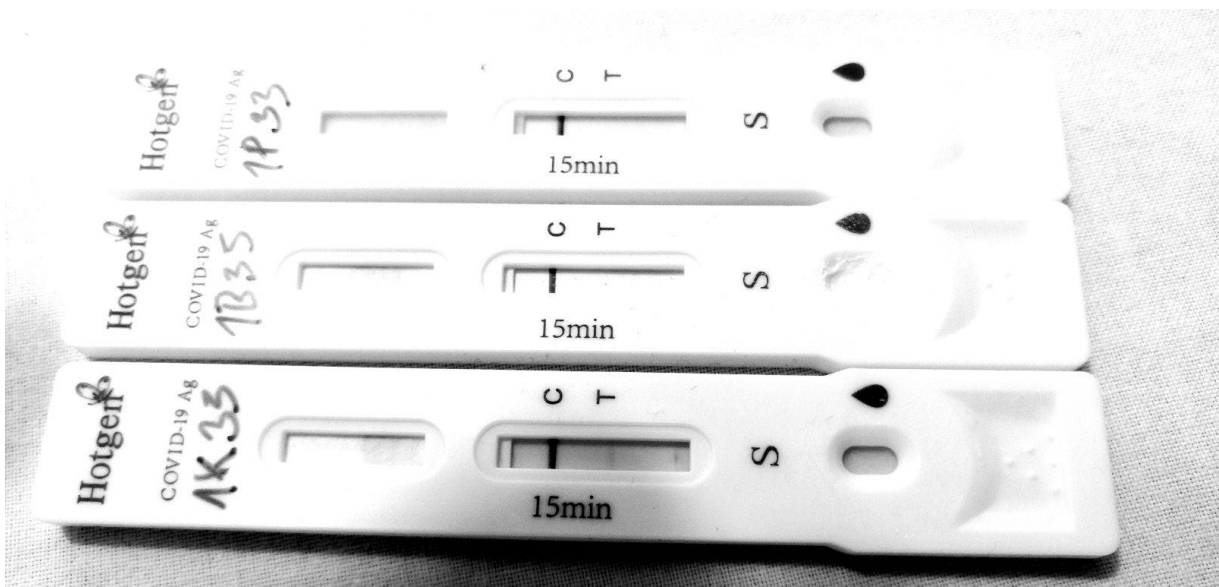
Slika 9:Rezultati testov četrte serije



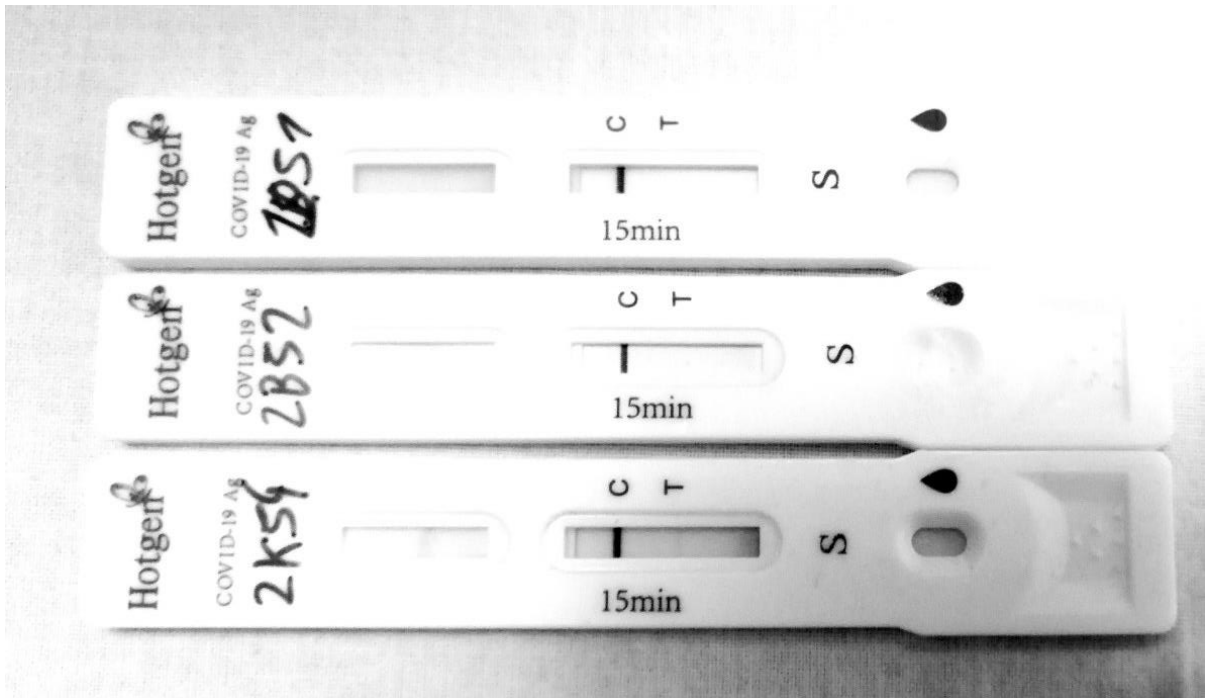
Slika 10:Rezultati testov pete serije



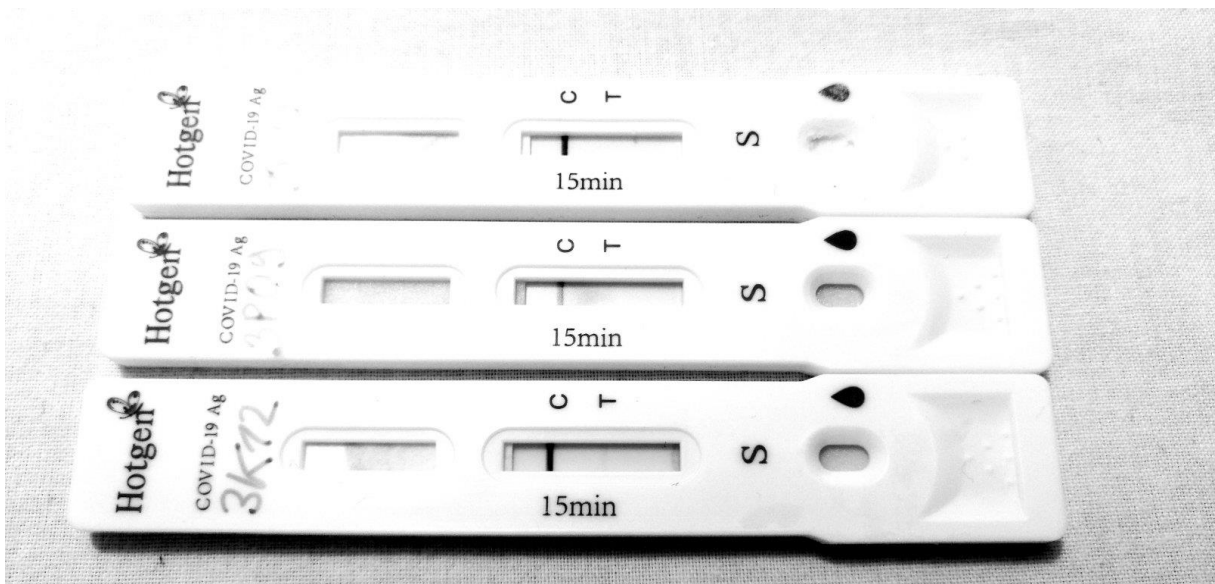
Slika 11: Fotografija vseh testov



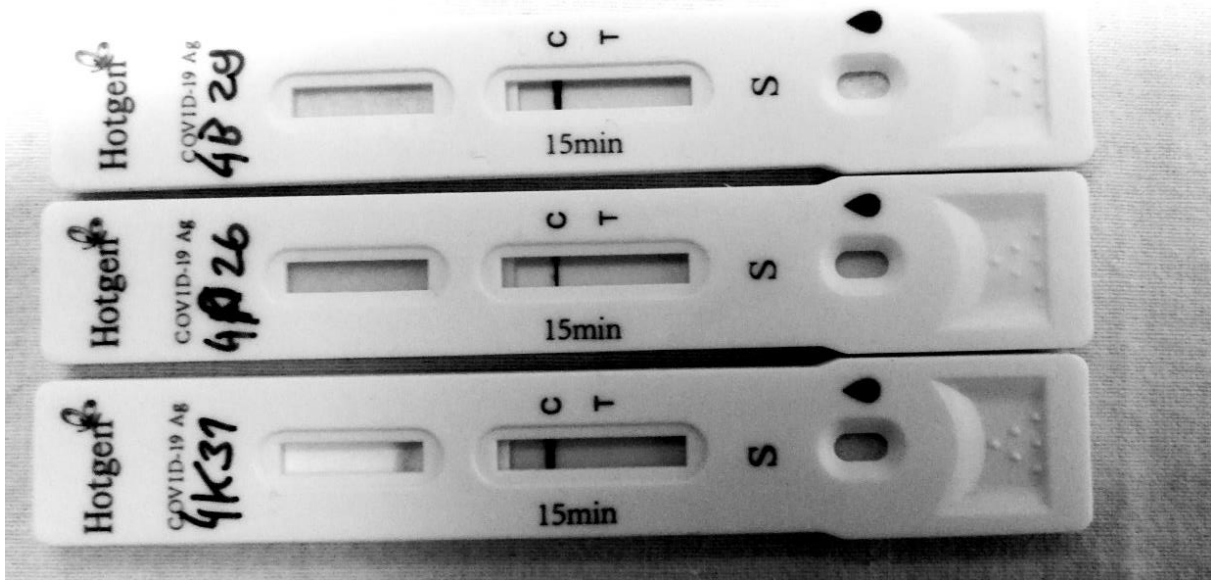
Slika 12: Rezultati testov prve serije z črno-belim filtrom



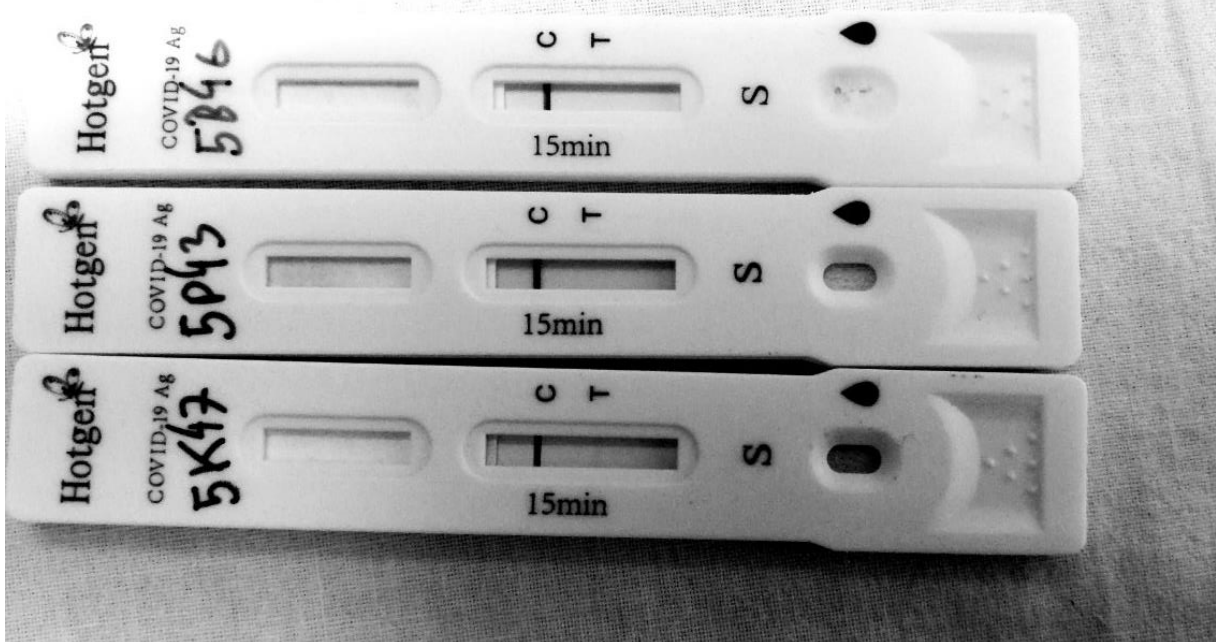
Slika 13:Rezultati testov druge serije z črno-belim filtrom



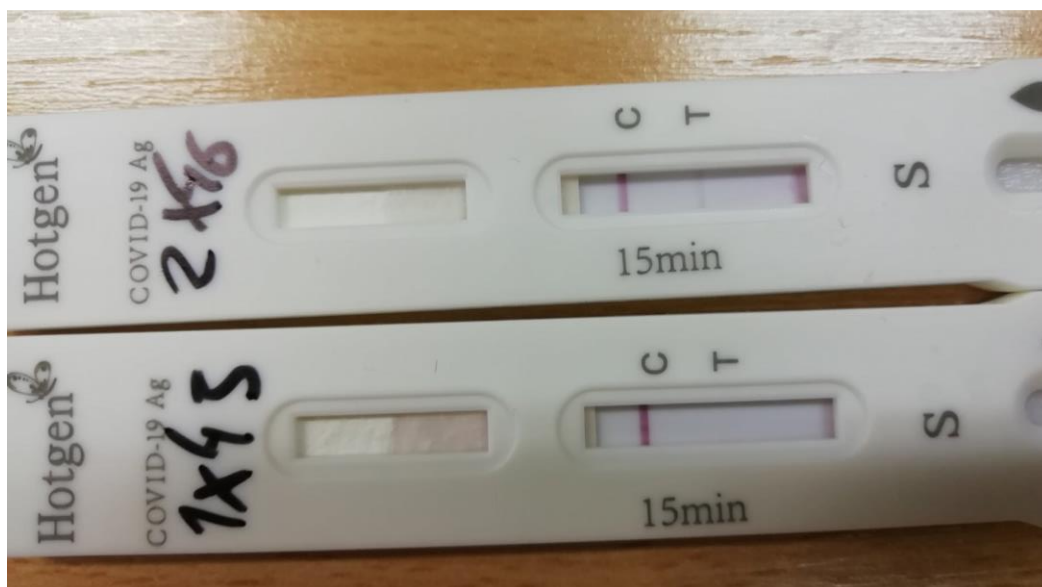
Slika 14:Rezultati testov tretje serije z črno-belim filtrom



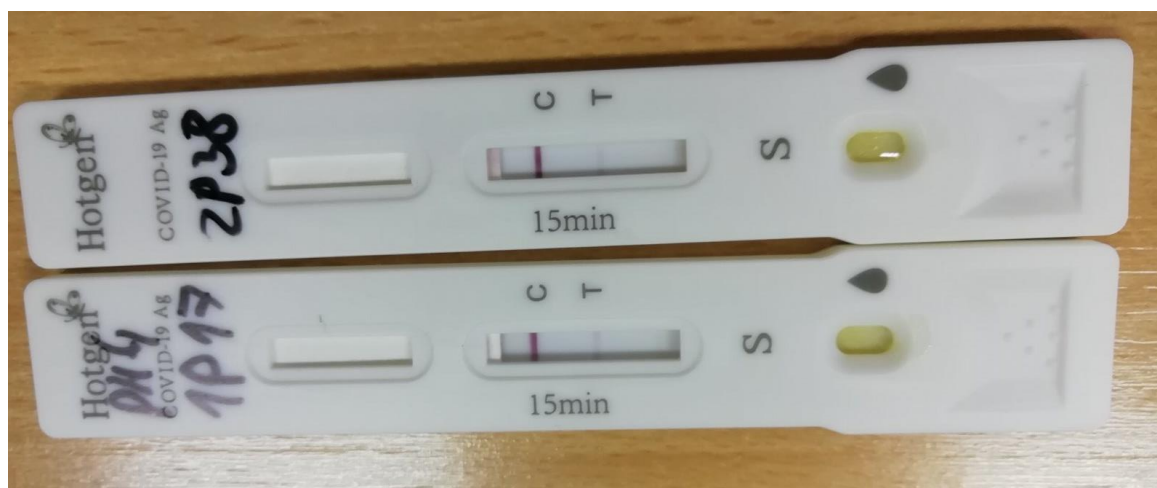
Slika 15:Rezultati testov četrte serije z črno-belim filtrom



Slika 16:Rezultati testov pete serije z črno-belim filtrom



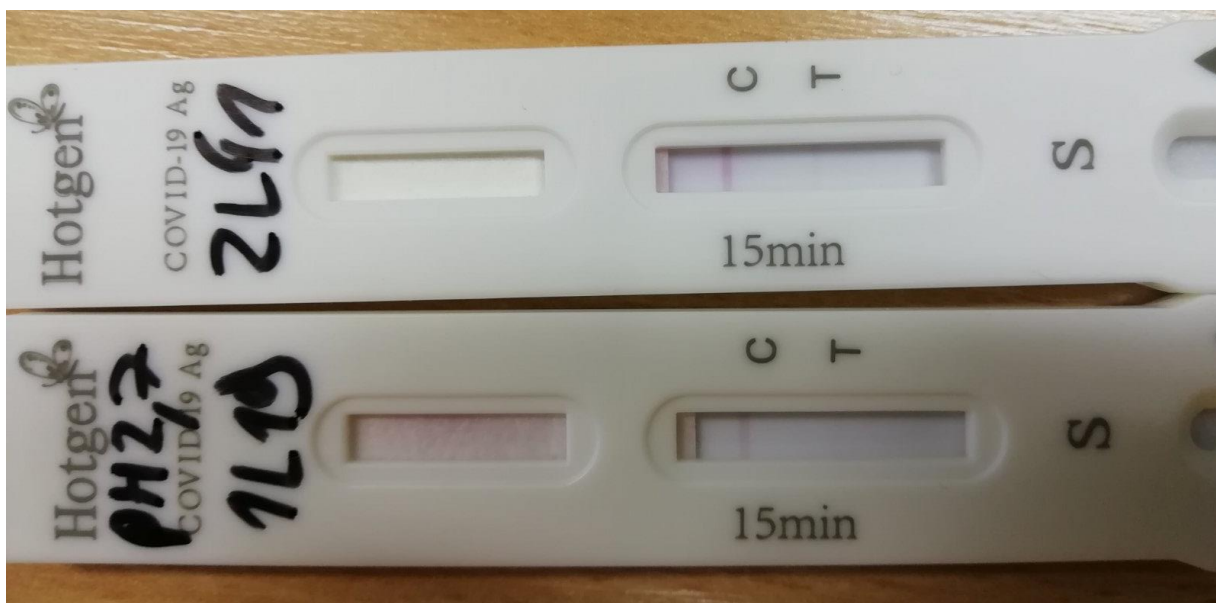
Slika 17: Rezultata obeh serij z dodanim radlerjem



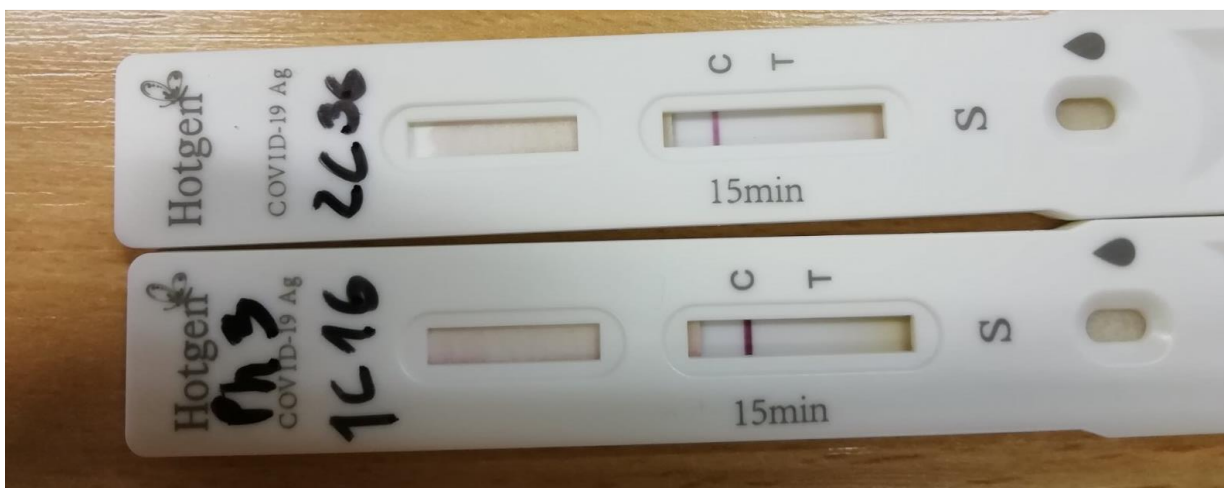
Slika 18: Rezultata obeh serij z dodanim pomarančnim sokom



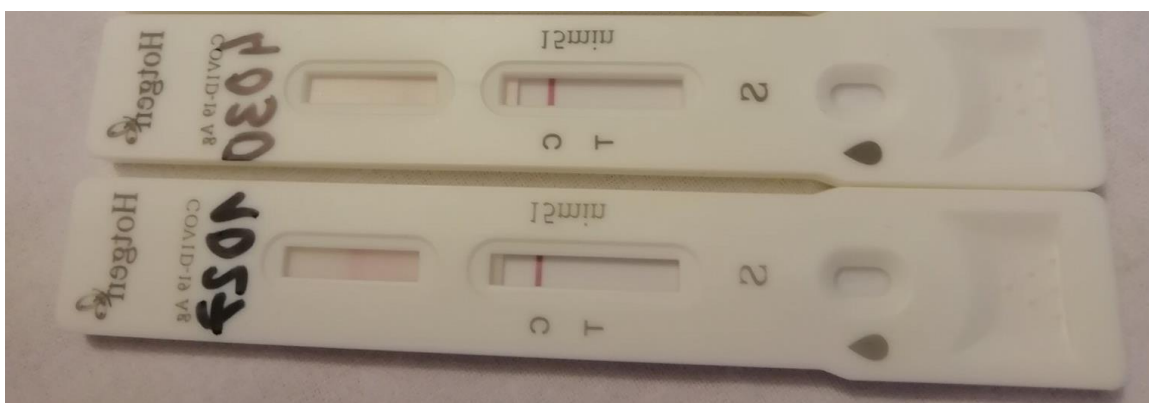
Slika 19: Rezultata serij z dodano raztopino citronske kisline



Slika 20: Fotografija rezultatov obeh serij z dodanim limoninim sokom



Slika 21: Fotografija rezultatov obeh serij z dodano coca-colo



Slika 22: Fotografija rezultatov obeh serij z dodano očetno kislino



Slika 23: Fotografija rezultatov obeh serij z dodanim radlerjem v črno-belem filtru



Slika 24: Rezultata obeh serij z dodanim pomarančnim sokom v črno-belem filtru



Slika 25: Rezultata obeh serij z dodanim limoninim sokom v črno-belem filtru



Slika 26: Fotografija rezultatov obeh serij z dodano raztopino citronske kisline v črno-belem filtru