# 3. KONGRES HRVATSKE KOMORE ZDRAVSTVENIH RADNIKA

STRUKOVNOG RAZREDA ZA MEDICINSKO-LABORATORIJSKU DJELATNOST

MEDICINSKO-LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA U PRAKSI I PRAVO U ZDRAVSTVU

s međunarodnim sudjelovanjem

# 3rd CONGRESS OF THE CROATIAN CHAMBER OF HEALTH PROFESSIONALS

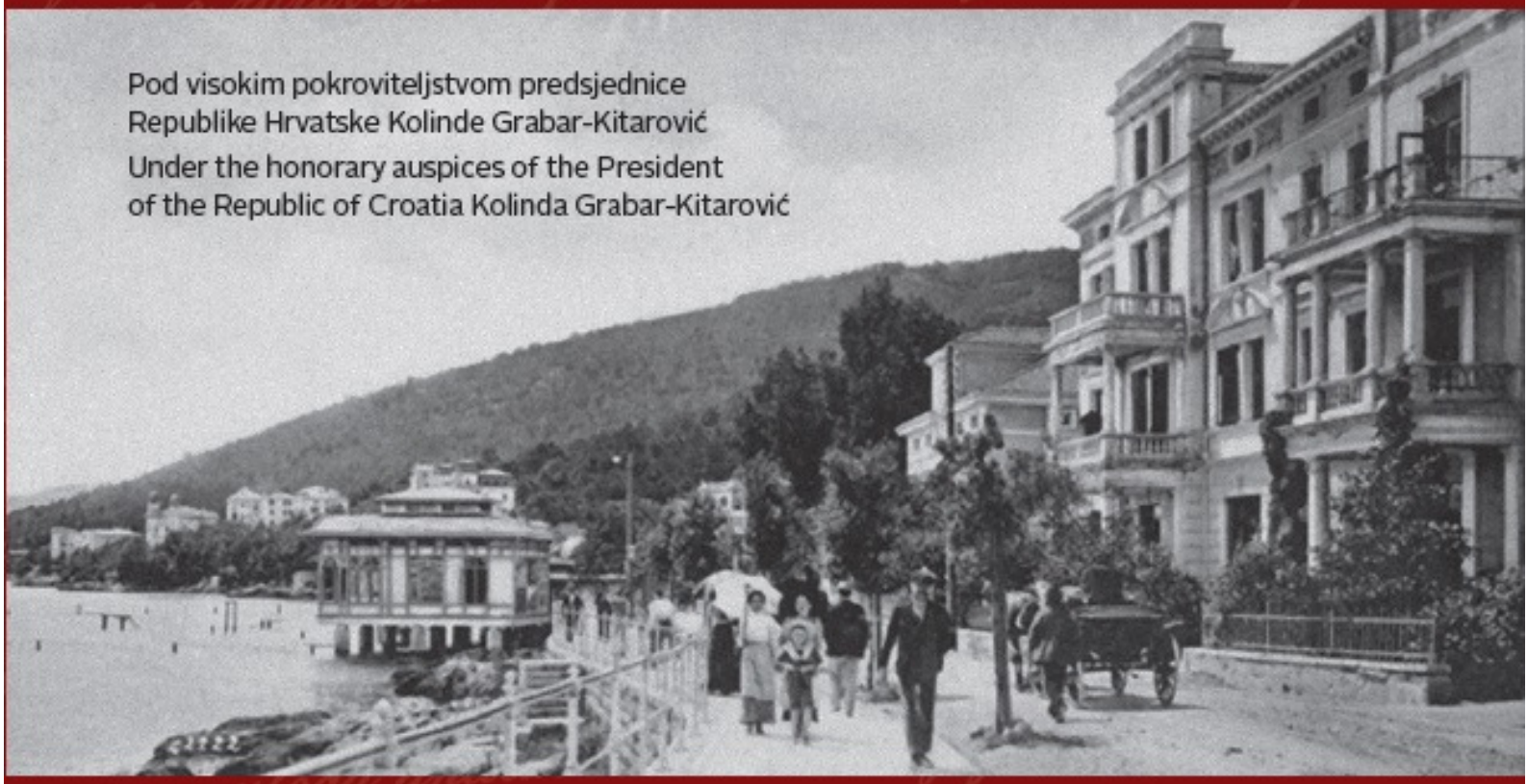
PROFESSIONAL DEPARTMENT FOR MEDICAL LABORATORY ACTIVITIES

MEDICAL LABORATORY DIAGNOSTICS IN PRACTICE AND MEDICAL LAW

with international participation

Pod visokim pokroviteljstvom predsjednice Republike Hrvatske Kolinde Grabar-Kitarović

Under the honorary auspices of the President of the Republic of Croatia Kolinda Grabar-Kitarović



# KNJIGA SAŽETAKA / BOOK OF ABSTRACTS

**Grand hotel 4 opatijska cvijeta**
**Opatija - CROATIA**
**June 2-5, 2016**

**KNJIGA SAŽETAKA**

**3. KONGRESA HRVATSKE KOMORE ZDRAVSTVENIH RADNIKA, STRUKOVNOG RAZREDA ZA MEDICINSKO-LABORATORIJSKU DJELATNOST**

**BOOK OF ABSTRACTS**

**OF THE 3rd CONGRESS OF THE CROATIAN CHAMBER OF HEALTH PROFESSIONALS, PROFESSIONAL DEPARTMENT FOR MEDICAL LABORATORY ACTIVITIES**

**NAKLADNIK**

HRVATSKA KOMORA ZDRAVSTVENIH RADNIKA

STRUKOVNI RAZRED ZA MEDICINSKO-LABORATORIJSKU DJELATNOST

Vinogradska cesta 29,

ZAGREB

**ZA NAKLADNIKA**

Jasna Matić, bacc. med. lab. diagn.

**UREDNIK**

Domagoj Caban, mag. med. lab. diag.

**UREDNICA PROGRAMA**

Jasna Matić, bacc. med. lab. diagn.

**UČESTALOST IZLAŽENJA**

Dvogodišnje

**MJESTO IZDAVANJA**

Zagreb, 2016.

**ISSN:** 2459-8178

## ORGANIZATOR / ORGANIZER

## SUORGANIZATOR / COORGANIZER

**Pod visokim pokroviteljstvom predsjednice Republike Hrvatske**

Kolinde Grabar-Kitarović

**Under the honorary auspices of the President of Republic of Croatia**

Kolinda Grabar-Kitarović

## POD POKROVITELJSTVOM / UNDER AUSPICES

Zdravstveno veleučilište Zagreb / University of Applied Health Sciences

Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci / Faculty of Medicine, University of Rijeka

Fakultet zdravstvenih studija Sveučilišta u Rijeci / Faculty of Health Studies Rijeka

Hrvatska liječnička komora / Croatian Medical Chamber

Pravni fakultet Sveučilišta u Splitu / Faculty of Law, University of Split

Pravni fakultet Sveučilišta u Rijeci / Faculty of Law, University of Rijeka

## MEDIJSKI POKROVITELJ / MEDIA SPONSOR

Medix

## GLAVNE TEME / MAIN TOPICS

Klinička kemija i hematologija / Clinical chemistry and haemathology

Mikrobiologija / Microbiology

Patohistologija i citologija / Pathohistology and citology

Transfuzijska medicina – imunologija / Transfusion medicine - Immunology

Molekularna dijagnostika / Molecular diagnostics

Pravo u zdravstvu / Medical Law

Studentska sekcija / Student section

## ORGANIZATOR / ORGANIZER

HRVATSKA KOMORA ZDRAVSTVENIH RADNIKA – STRUKOVNI RAZRED ZA MEDICINSKO-LABORATORIJSKU DJELATNOST / CROATIAN CHAMBER OF HEALTH PROFESSIONALS – PROFESSIONAL DEPARTMENT FOR MEDICAL LABORATORY ACTIVITIES

## SUORGANIZATOR / COORGANIZER

MEDICINSKI FAKULTET SVEUČILIŠTA U OSIJEKU / FACULTY OF MEDICINE, UNIVERSITY OF OSIJEK

## ORGANIZACIJSKI ODBOR / ORGANISING COMMITTEE

**Predsjednica kongresa / Congress President**

JASNA MATIĆ, bacc. med. lab. diagn. (Zagreb, Croatia)

**Dopredsjednik kongresa / Congress Vice president**

prof. dr. sc. ALEKSANDAR VČEV (Osijek, Croatia)

**Tajnik kongresa / Congress Secretary**

NEVEN SUČIĆ, mag. med. lab. diag. (Rijeka, Croatia)

**Moderator studentske sekcije / Moderator of student section**

prof. dr. sc. LJUBICA GLAVAŠ-OBROVAC, dipl. ing. (Osijek, Croatia)

**Administrator kongresa / Congress Administrator**

SANJA ETLING-DUNDIĆ (Zagreb, Croatia)

ERNEVAZA KOPAČIN, dipl. ing. med. lab. diagn. (Osijek, Croatia)

MIRICA BATARELO, bacc. med. lab. diagn. (Zagreb, Croatia)

DOMAGOJ CABAN, mag. med. lab. diag. (Zagreb, Croatia)
ANKICA BOJČIĆ, bacc. med. lab. diagn. (Zagreb, Croatia)
MARICA SEMIJALAC, zdrav. lab. teh. (Zagreb, Croatia)
ANA KIČIN, mag. iur. (Zagreb, Croatia)

## ZNANSTVENI ODBOR / SCIENTIFIC COMMITTEE

MARIE CULLITON, MSc, M.B.A, F.A.M.L.S. (Dublin, Ireland)
TOM STOWE, ART (Calgary, Canada)
FERNANDO MENDES, MSc, Specialist (Coimbra, Portugal)
ITE TYGAT, MSc (Brussels, Belgium)
prof. dr. sc. LJUBICA GLAVAŠ-OBROVAC, dipl. ing. (Osijek, Croatia)
IVA BUTIĆ, dr. med. (Zagreb, Croatia)
prof. dr. sc. MARINA KOS, dr. med. (Zagreb, Croatia)
prof. dr. sc. BOŽO KRUŠLIN, dr. med. (Zagreb, Croatia)
prof. dr. sc. SLAVKO GAŠPAROV, dr. med. (Zagreb, Croatia)
prof. dr. sc. MLADEN BELICZA, dr. med. (Zagreb, Croatia)
JASNA MATIĆ, bacc. med. lab. diagn. (Zagreb, Croatia)
NEVEN SUČIĆ, mag. med. lab. diag. (Rijeka, Croatia)
MIRICA BATARELO, bacc. med. lab. diagn. (Zagreb, Croatia)
SANJA KUŠTREBA, mag. med. lab. diag. (Zagreb, Croatia)
MARIJA ČULJAK, mag. med. lab. diag. (Zagreb, Croatia)
DOMAGOJ CABAN, mag. med. lab. diag. (Zagreb, Croatia)
SUZANA HANČIĆ, mag. med. lab. diag. (Zagreb, Croatia)
ĐURĐA SAKAL, dipl. iur. (Zagreb, Croatia)
mr. sc. ANTE KLARIĆ, dipl. iur. (Zagreb, Croatia)

## MJESTO I DATUM ODRŽAVANJA / VENUE AND DATE OF EVENT

02.-05.06.2016. OPATIJA, GRAND HOTEL 4 OPATIJSKA CVIJETA

## PROGRAM KONGRESA

### ČETVRTAK, 02.06.2016. / Thursday, June 2, 2016

| | |
|---|---|
| 14:00-17:00 | REGISTRACIJA / REGISTRATION |

**Predsjedavajući / Chairman: Neven Sučić, Jasna Matić, Mirica Batarelo**

| | |
|---|---|
| 17:00-17:20 | **Josip Mađarić**: ODGOVORNOST LIJEČNIKA I ZDRAVSTVENIH USTANOVA ZA NAKNADU ŠTETE (MEDICAL MALPRACTICE) |
| 17:20-17:40 | **Slavko Gašparov**: INDOLENT B-CELL LYMPHOPROLIFERATIVE DISEASES OF THE GATROINTESTINAL TRACT |
| 17:40-18:00 | **Iva Butić**: ULOGA BRZE DIJAGNOSTIKE U LIJEČENJU INFEKCIJA UZROKOVANIM CLOSTRIDIUM DIFFICILE |
| 18:00-18:20 | **Tom Stowe**: THE INTERNATIONAL FEDERATION OF BIOMEDICAL LABORATORY SCIENCE |
| 18:20:18:40 | **Marie Culliton**: EPBS: FACILITATING REALISATION OF A SHARED VISION FOR BIOMEDICAL SCIENTISTS IN EUROPE |
| 18:40-19:00 | **Fernando Mendes**: ERASMUS MUNDUS JOINT MASTER DEGREE IN BIOMEDICAL LABORATORY SCIENCES – THE NEXT LEVEL OF BIOMEDICAL LABORATORY SCIENCES |
| 19:00-19:20 | **Ite Tygat**: STUDYING AND WORKING AS A BIOMEDICAL LABORATORY SCIENTIST IN BELGIUM |
| 19:20-19:40 | **Jasna Matić**: MEDICINSKO-LABORATORIJSKA DJELATNOST PRIJE I NAKON ULASKA RH U EU |
| 19:40-19:50 | RASPRAVA / DISCUSSION |
| 20:00-20:30 | Otvaranje kongresa / Opening ceremony |
| 20:30 | Koktel dobrodošlice - nastup klape / Welcome cocktail – vocal ensemble performance |

### PETAK, 03.06.2016. / Friday, June 3, 2016

**Predsjedavajući / Chairman: Ljubica Glavaš-Obrovac, Ernevaza Kopačin, Ankica Bojčić**

| | |
|---|---|
| 09:00-09:20 | **Marie Culliton**: 1st TRIMESTER SCREENING |
| 09:20-09:30 | **Doris Ožanić**: UVOĐENJE PROTOČNE CITOMETRIJE U KLINIČKI ZAVOD ZA LABORTORIJSKU DIJAGNOSTIKU |

| | |
|---|---|
| 09:30-09:40 | **Edin Halilović**: UČESTALOST POGREŠAKA U PRIJEPISU UPUTNICA U LABORATORIJSKI INFORMACIJSKI SUSTAV |
| 09:40-09:50 | **Ivana Gašpar**: UČINKOVITOST LABORATORIJSKIH TESTOVA NEONATALNE SEPSE |
| 09:50-10:00 | **Ivica Volar**: ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE VALPROIČNE KISELINE – PRIKAZ SLUČAJA |
| 10:00-10:10 | **Marija Čuljak**: ISTRAŽIVANJE MIKROBIOLOŠKE FLORE PODVEZA KOJI SE KORISTE PRI UZORKOVANJU VENSKE KRVI |
| 10:10:10:20 | **Silvija Canko**: D-DIMER U SUVREMENOJ DIJAGNOSTICI KARDIOVASKULARNIH BOLESTI |
| 10:20-10:30 | **Tamara Vukosavljević**: CLINICAL LABORATORY OF THE GENERAL HOSPITAL PULA, EXPERIENCES WITH COLLECTION OF SPECIMENS FOR LABORATORY TESTING |
| 10:30-10:40 | RASPRAVA / DISCUSSION |
| 10:40-11:00 | Kava pauza / Coffee break |

**Predsjedavajući / Chairman: Ite Tygat, Tom Stowe, Neven Sučić**

| | |
|---|---|
| 11:00-11:20 | **Ljubica Glavaš-Obrovac**: CIRCULATING microRNAs AS DIAGNOSTIC AND PREDICTIVE CANCER BIOMARKERS |
| 11:20-11:30 | **Ana Pešut**: KVANTIFERONSKI TEST U DIJAGNOSTICI LATENTNE TUBERKULOZE |
| 11:30-11:40 | **Dragutin Furdi**: PRIMJENA TEKUĆE PODLOGE U DIJAGNOSTICI NETUBERKULOZNIH MIKOBAKTERIJA U MIKROBIOLOŠKOM LABORATORIJU ZAVODA ZA JAVNO ZDRAVSTVO MEĐIMURSKE ŽUPANIJE |
| 11:40-11:50 | **Manda Markanović**: MALDI-TOF MASENA SPEKTROMETRIJA, IDENTIFIKACIJA MIKROORGANIZAMA U RUTINSKOM RADU LABORATORIJA |
| 11:50-12:00 | **Neven Sučić**: COMPOSITION OF INTESTINAL MICROBIOTA IN INFANTS |
| 12:00-12:10 | **Sanja Kuštreba**: TESTIRANJE OSJETLJIVOSTI S. PNEUMONIAE PREMA EUCAST SMJERNICAMA |
| 12:10-12:20 | RASPRAVA / DISCUSSION |
| 12:20-14:20 | Ručak / Lunch |

**Predsjedavajući / Marie Culliton, Sanja Kuštreba, Marija Čuljak**

| | |
|---|---|
| 14:20-14:30 | **Fernando Mendes**: PREVALENCE OF THE ANTIBODIES OF THE NEW HISTO-BLOOD SYSTEM – FORS SYSTEM |
| 14:30-14:40 | **Nives Ražnjević**: IMUNOHISTOKEMIJSKO DOKAZIVANJE ALK-FUZIJSKOG PROTEINA U TUMORIMA PLUĆA |
| 14:40-14:50 | **Silvia Arbanas**: ZNAČAJ PATOHISTOLOŠKE PRETRAGE U SUDSKO-MEDICINSKOJ PRAKSI |
| 14:50-15:00 | **Suzana Hančić**: MIKROOKOLIŠ U KLASIČNOM HODGKINOVOM LIMFOMU |
| 15:00-15:10 | **Silvija Canko**: ZNAČAJ CITODIJAGNOSTIKE U DIJAGNOSTIČKOM ALGORITMU PRETRAGA NEOPLAZMI UROTELA |
| 15:10-15:20 | **Arijana Vuko**: INFORMATIZACIJA PATOHISTOLOŠKOG LABORATORIJA – VANTAGE WORKFLOW SOLUTION |
| 15:20-15:30 | RASPRAVA / DISCUSSION |
| 15:30-16:00 | Kava pauza / Coffee break |

**Predsjedavajući / chairman: Fernando Mendes, Domagoj Caban, Suzana Hančić**

| | |
|---|---|
| 16:00-16:20 | **Božo Krušlin**: POGREŠKE U PATOHISTOLOŠKOM LABORATORIJU |
| 16:20-16:30 | **Kristina Kopić**: TIPIZACIJA HLA U ODREĐIVANJU GENETSKE PODLOŽNOSTI NA GLUTENSKU ENTEROPATIJU |
| 16:30-16:40 | **Sanja Salamunović**: POLIMORFIZAM GENA HLA DAVATELJA ORGANA U PROGRAMU KADAVERIČNE TRANSPLANTACIJE U HRVATSKOJ I EUROTRANSPLANTU |
| 16:40-16:50 | **Anto Zeba**: VAŽNOST VOLUMENA KRVI KOD ODREĐIVANJA PROTROMBINSKOG VREMENA U BOLESNIKA NA TERAPIJI MARTEFARINOM (VARFARINNATRIJ) |
| 16:50-17:00 | **Stjepan Stanešić**: USPOREDBA NALAZA KONTROLE KVALITETE KONCENTRATA TROMBOCITA U PLAZMI I ADITIVNIM OTOPINAMA |
| 17:00-17:10 | **Vladimira Martić**: PROMJENE KOJE NASTAJU TIJEKOM ČUVANJA KONCENTRATA ERITROCITA |
| 17:10-17:20 | RASPRAVA / DISCUSSION |

| | |
|---|---|
| | STUDENTSKA SEKCIJA / STUDENT SESSION |
| 17:20-18:20 | Moderator / Moderator: **Ljubica Glavaš-Obrovac** |
| | PREZENTACIJA POSTERA / POSTER PRESENTATION |
| 19:00-21:00 | Večera / Dinner |

## SUBOTA, 04.06.2016. / Saturday, June 4, 2016

**Predsjedavajući / chairman: Ante Klarić, Đurđa Sakal, Ana Kičin**

| | |
|---|---|
| 08:30-08:50 | **Jozo Čizmić**: MEDICINAE LEGE-OPTIMUS AMICUS, PESSIMUS INIMICUS (MEDICINSKO PRAVO – NAJBOLJI PRIJATELJ, NAJGORI NEPRIJATELJ) |
| 08:50-09:10 | **Maja Bukovac Puvača**: UZROČNA VEZA KAO PRETPOSTAVKA ODGOVORNOSTI LIJEČNIKA ZA ŠTETU KOD „NEŽELJENOG ROĐENJA“ DJETETA S TEŠKIM MALFORMACIJAMA |
| 09:10-09:30 | **Marina Kos**: KLINIČKA I SUDSKOMEDICINSKA VAŽNOST PATOLOŠKE PRETRAGE POSTELJICE |
| 09:30-09:50 | **Ante Klarić**: PRAVNO UREĐENJE POSTUPAKA S POBAČENIM PLODOM / MRTVOROĐENČETOM |
| 09:50-10:10 | **Andrija Stojanović**: OBAVEZNO OSIGURANJE OD ŠTETE, SVE ŠTO NE PIŠE ILI PIŠE MALIM SLOVIMA – ŠTO TREBA ZNATI O OBVEZNOM OSIGURANJU OD ODGOVORNOSTI ZA ŠTETU U PROVOĐENJU ZDRAVSTVENE ZAŠTITE? |
| 10:10-10:20 | RASPRAVA / DISCUSSION |
| 11:00 | Polazak na izlet / Excursion departure |
| 21:00 | Svečana večera / Gala dinner |

# SADRŽAJ


**POZVANA PREDAVANJA** / INVITED LECTURES ..... 1

ODGOVORNOST LIJEČNIKA I ZDRAVSTVENIH USTANOVA ZA NAKNADU ŠTETE (MEDICAL MALPRACTICE) ..... 2

INDOLENT B-CELL LYMPHOPROLIFERATIVE DISEASES OF THE GASTROINTESTINAL TRACT ..... 4

ULOGA BRZE DIJAGNOSTIKE U LIJEČENJU INFEKCIJA UZROKOVANIM *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* ..... 6

THE INTERNATIONAL FEDERATION OF BIOMEDICAL LABORATORY SCIENCE ..... 7

EPBS: FACILITATING REALISATION OF A SHARED VISION FOR BIOMEDICAL SCIENTISTS IN EUROPE. ..... 8

ERASMUS MUNDUS JOINT MASTER DEGREE IN BIOMEDICAL LABORATORY SCIENCES9

– THE NEXT LEVEL OF BIOMEDICAL LABORATORY SCIENCES ..... 9

STUDYING AND WORKING AS A BIOMEDICAL LABORATORY SCIENTIST IN BELGIUM ..... 11

MEDICINSKO-LABORATORIJSKA DJELATNOST PRIJE I NAKON ULASKA RH U EU ..... 12

CIRCULATING microRNAs AS DIAGNOSTIC AND PREDICTIVE CANCER BIOMARKERS ..... 13

POGREŠKE U PATOHISTOLOŠKOM LABORATORIJU ..... 14

KLINIČKA I SUDSKOMEDICINSKA VAŽNOST PATOLOŠKE PRETRAGE POSTELJICE ..... 15

1st TRIMESTER SCREENING ..... 16

PRAVNO UREĐENJE POSTUPAKA S POBAČENIM PLODOM/ MRTVOROĐENČETOM ..... 17

UZROČNA VEZA KAO PRETPOSTAVKA ODGOVORNOSTI LIJEČNIKA ZA ŠTETU KOD "NEŽELJENOG ROĐENJA" DJETETA S TEŠKIM MALFORMACIJAMA ..... 18

MEDICINAE LEGE – OPTIMUS AMICUS, PESSIMUS INIMICUS ..... 19

(MEDICINSKO PRAVO – NAJBOLJI PRIJATELJ, NAJGORI NEPRIJATELJ) ..... 19

**PREDAVANJA** / LECTURES ..... 23

UVOĐENJE PROTOČNE CITOMETRIJE U KLINIČKI ZAVOD ZA LABORATORIJSKU DIJAGNOSTIKU KBC-a RIJEKA ..... 24

UČESTALOST POGREŠAKA U PRIJEPISU UPUTNICA U LABORATORIJSKI INFORMACIJSKI SUSTAV ..... 26

UČINKOVITOST LABORATORIJSKIH TESTOVA NEONATALNE SEPSE ..... 27

ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE VALPROIČNE KISELINE – PRIKAZ SLUČAJA ..... 28

ISTRAŽIVANJE MIKROBIOLOŠKE FLORE PODVEZA KOJE SE KORISTE PRI UZORKOVANJU VENSKE KRVI ..... 29

D-DIMER U SUVREMENOJ DIJAGNOSTICI KARDIOVASKULARNIH BOLESTI ..... 30

CLINICAL LABORATORY OF THE GENERAL HOSPITAL PULA EXPERIENCES WITH COLLECTION OF SPECIMENS FOR LABORATORY TESTING ..... 31

KVANTIFERONSKI TEST U DIJAGNOSTICI LATENTNE TUBERKULOZE ..... 32

PRIMJENA TEKUĆE PODLOGE U DIJAGNOSTICI NETUBERKULOZNIH MIKOBAKTERIJA U MIKROBIOLOŠKOM LABORATORIJU ZAVODA ZA JAVNO ZDRAVSTVO MEĐIMURSKE ŽUPANIJE ..... 33

MALDI-TOF MASENA SPEKTROMETRIJA, IDENTIFIKACIJA MIKROORGANIZAMA U RUTINSKOM RADU LABORATORIJA ..... 34

COMPOSITION OF INTESTINAL MICROBIOTA IN INFANTS ..... 35

TESTIRANJE OSJETLJIVOSTI *S.PNEUMONIAE* PREMA EUCAST SMJERNICAMA ..... 36
INFORMATIZACIJA PATOHISTOLOŠKOG LABORATORIJA - VANTAGE WORKFLOW SOLUTION ..... 37
IMUNOHISTOKEMIJSKO DOKAZIVANJE ALK – FUZIJSKOG PROTEINA U TUMORIMA PLUĆA ..... 38
ZNAČAJ PATOHISTOLOŠKE PRETRAGE U SUDSKO-MEDICINSKOJ PRAKSI ..... 39
MIKROOKOLIŠ U KLASIČNOM HODGKINOVOM LIMFOMU ..... 40
ZNAČAJ CITODIJAGNOSTIKE U DIJAGNOSTIČKOM ALGORITMU PRETRAGA NEOPLAZMI UROTELA ..... 41
VAŽNOST VOLUMENA KRVI KOD ODRE IVANJA PROTROMBINSKOG VREMENA U BOLESNIKA NA TERAPIJI MARTEFARINOM (VARFARINNATRIJ) ..... 42
PREVALENCE OF THE ANTIBODIES OF THE NEW HISTO-BLOOD SYSTEM - FORS SYSTEM ..... 43
*TIPIZACIJA HLA U* ODREĐIVANJU GENETSKE PODLOŽNOSTI NA GLUTENSKU ENTEROPATIJU ..... 44
POLIMORFIZAM GENA HLA DAVATELJA ORGANA U PROGRAMU KADAVERIČNE TRANSPLANTACIJE ORGANA U HRVATSKOJ I EUROTRANSPLANTU ..... 45
USPOREDBA NALAZA KONTROLE KVALITETE KONCENTRATA TROMBOCITA U PLAZMI I ADITIVNIM OTOPINIMA ..... 46
PROMJENE KOJE NASTAJU TIJEKOM ČUVANJA KONCENTRATA ERITROCITA ..... 47
**POSTER PREZENTACIJE** / POSTER PRESENTATION ..... 48
UTJECAJ TEHNIKE UZORKOVANJA KRVI NA SMANJENJE BROJA HEMOLIZIRANIH UZORAKA ZA LABORATORIJSKE PRETRAGE PRI UZORKOVANJU VENSKE KRVI IZ INTRAVENOZNIH KATETERA ..... 49
PRIKAZ SLUČAJA NEUOBIČAJENE INAČICE HEMOGLOBINA – Hb-BEOGRAD ..... 50
HOW SECRETOR STATUS AND BLOOD GROUP INFLUENCE FUNGAL INFECTIONS IN DIABETES MELLITUS TYPE 2 ..... 51
USPOREDBA KALCIJA I ANORGANSKIH FOSFATA U UZORCIMA ZAKISELJENE I NEZAKISELJENE 24h MOKRAĆE ..... 52
UZORAK SUHE KAPI KRVI NA FILTAR PAPIRU U DIJAGNOSTICI LIZOSOMSKIH BOLESTI NAKUPLJANJA: PREDANALITIKA IZVAN LABORATORIJA ..... 53
INTERFERENCIJA GLUKOZE U MJERENJU KONCENTRACIJE BIOKEMIJSKIH PARAMETARA ..... 54
USPOREDBA VRIJEDNOSTI GLUKOZE NA AUTOMATSKOM ANALIZATORU OLYMPUS AU 5800 I APARATU ZA ODREĐIVANJE GLUKOZE UZ BOLESNIKA ACCU-CHECK INFORM (COBAS) ..... 55
STANDARDIZACIJA PROCESA PRIJE ISPITIVANJA U KLINIČKOJ PRIMJENI MASENE SPEKTROMETRIJE ..... 56
INFORMATIZACIJA PREDANALITIČKIH I POSTANALITIČKIH POSTUPAKA U AKREDITIRANOM LABORATORIJU ..... 57
PREDANALITIČKA OBRADA UZORKA ZA MJERENJE KALPROTEKTINA ..... 58
ANALIZA I VREDNOVANJE POKAZELJA RIZIKA U PROCESIMA PRIJE ISPITIVANJA AKREDITIRANOG MEDICINSKO BIOKEMIJSKOG LABORATORIJA ..... 59
ODREĐIVANJE PROTUTIJELA NA NUKLEARNE ANTIGENE LUMINEX METODOM ..... 60
MOBILNI TELEFONI KAO POTENCIJALNI IZVOR INFEKCIJE ..... 61
DISTRIBUCIJA GENOTIPOVA I SUBTIPOVA VIRUSA HEPATITISA C U RAZDOBLJU OD 2010-2015.G. ..... 62
DIJAGNOSTIKA PARAZITOZA PROBAVNOG SUSTAVA ..... 63
MOLEKULARNA DIJAGNOSTIKA HEPATITIS B VIRUSA U OSJEČKO – BARANJSKOJ ŽUPANIJI ..... 64

CHLAMYDIA TRACHOMATIS GENITAL INFECTION TO SCREEN OR NOT TO SCREEN? ..... 65

ZNAČENJE DIREKTNE MIKROSKOPIJE U MIKROBIOLOŠKOJ DIJAGNOSTICI TUBERKULOZE ..... 66

RANO OTKRIVANJE PROMJENA GENOMA METODOM INTERFAZNE FLUORESCENTNE IN SITU HIBRIDIZACIJE (I-FISH) U BOLESNIKA SA HEMATURIJOM ..... 67

ULOGA POLIMORFIZAMA GENA *BIRC5* U KARCINOMIMA PLOČASTOG EPITELA USNE ŠUPLJINE I OROFARINKSA ..... 68

PRIMJENA FLUORESCENTNE *IN SITU* HIBRIDIZACIJE U OTKRIVANJU MIKRODELECIJSKIH SINDROMA ..... 69

MOLEKULARNA DIJAGNOSTIKA MIOTONIČNE DISTROFIJE TIPA 2 ..... 70

VALIDACIJA UREĐAJA ZA MJERENJE OSTATNIH LEUKOCITA U FILTRIRANIM KRVNIM PRIPRAVCIMA- ADAM rWBC Counting System ..... 71

MOLEKULARNA DIJAGNOSTIKA VIRUSA - HITNO I VRLO HITNO TESTIRANJE ..... 72

UČESTALOST GENA I I HAPLOTIPOVA HLA-A-B-DRB1 U JEDINICAMA UMBILIKALNE KRVI I NJIHOVIH MAJKI ..... 73

ŠTO ĆE NAM NOVO DONIJETI REVIZIJA DIREKTIVE ZA IN VITRO DIJAGNOSTIKE I MEDICINSKE PROIZVODE 98/79/EC ..... 74

PROIZVODNJA UNIVERZALNOG KRIOPRECIPITATA U HZTM (2000 - 2015) - ČIMBENICI KOJI SU NA TO UTJECALI ..... 75

PROIZVODNJA I ZADOVOLJENJE POTREBA ZA LIJEČENJEM KONCENTRATIMA TROMBOCITA ..... 76

OCJENA RADA DJELATNIKA ODJELA ZA ERITROCITNU DIJAGNOSTIKU HRVATSKOG ZAVODA ZA TRANSFUZIJSKU MEDICINU KROZ ANALIZU „TURN AROUND TIME“ POJEDINIH PRETRAGA ..... 77

PROVEDBA KOREKTIVNIH MJERA U TRANSFUZIJSKOJ DJELATNOSTI HZTM 2013-2015 ..... 78

AUTOMATIZACIJA IMUNOHEMATOLOŠKOG TESTIRANJA DOBROVOLJNIH DAVATELJA KRVI ..... 79

MIKROBIOLOŠKO OPTEREĆENJE PROČIŠĆENE VODE KORIŠTENE U PROIZVODNJI PARENTERALNIH PRIPRAVAKA U FARMACEUTSKOJ DJELATNOSTI HRVATSKOG ZAVODA ZA TRANSFUZIJSKU MEDICINU ..... 80

**STUDENTSKA SEKCIJA** / STUDENT SECTION ..... 81

UTJECAJ $Fe^{3+}$-IONA NA RAST KVASCA *Sacharomyces cerevisae* TE SADRŽAJ I SASTAV NJEGOVIH LIPIDA ..... 82

SEDIMENTACIJA ERITROCITA I C- REAKTIVNI PROTEIN ANALITIČKA OSJETLJIVOST I DIJAGNOSTIČKA PRIMJENA ..... 83

NOVI LABORATORIJSKI MARKERI ZA PACIJENTE KOJI BOLUJU OD REUMATSKOG ARTRITISA ..... 84

POZNAVANJE PREDANALITIKE U STUDIJSKOM PROGRAMU ZDRAVSTVENOG VELEUČILIŠTA ..... 85

LABORATORIJSKI POKAZATELJI NEPOVOLJNOG ISHODA KOD HOSPITALIZIRANIH BOLESNIKA SA ZATAJIVANJEM SRCA ..... 86

PROGNOSTIČKA VRIJEDNOST LABORATORIJSKIH PARAMETARA KOD BOLESNIKA NA KRONIČNOJ HEMODIJALIZI S ATEROSKLEROTSKOM BOLESTI ..... 87

HLA CLASS II ALLELE ASSOCIATION WITH JUVENILE IDIOPATHIC ARTHRITIS IN EASTERN CROATIA ..... 88

PRAĆENJE USPJEHA TERAPIJE ZA KRONIČNU MIJELOIČNU LEUKEMIJU – MEĐUNARODNA STANDARDIZACIJA KVANTIFIKACIJE BCR-ABL PRIJEPISA ..... 89

HLA RISK GENOTYPES FOR TYPE 1 DIABETES IN PATIENTS OF EASTERN CROATIA ..... 90

# **POZVANA PREDAVANJA** / INVITED LECTURES

Josip Mađarić, odv.
Odvjetničko društvo „Mađarić i Lui“ Zagreb, Ilica 191f
(josip.madaric@odml.hr)

# ODGOVORNOST LIJEČNIKA I ZDRAVSTVENIH USTANOVA ZA NAKNADU ŠTETE (MEDICAL MALPRACTICE)

## I. Uvod:

Odgovornost liječnika i drugih radnika u zdravstvu nameće se kao jedna od neizostavnih tema u promišljanju funkcioniranja zdravstvenog sustava u nailazećem periodu. Dugo vremena prešućivana i zanemarivana, odgovornost liječnika i drugog zdravstvenog osoblja za naknadu štete oštećenom pacijentu, u posljednjih nekoliko godina dobiva sve više na važnosti, redovita je tema skoro svih stručnih sastanaka zdravstvenih radnika, a broj zahtjeva i tužbi pacijenata iz godine u godinu raste gotovo geometrijskom progresijom. Zdravstveni sustav RH, gledajući u cjelini, nije dobro odgovorio na opisano stanje, svaka nova zdravstvena administracija o tom problemu (ne) promišlja drugačije, temeljni principi funkcioniranja sustava obeštećenja pacijenata usvojeni u zemljama koja su ta pitanja više ili manje uspješno riješile prije više desetaka godina, jednostavno se ne žele prihvatiti i provesti u djelo. Održivi sustav naknade štete pacijentima u tim zemljama temelji se na otvorenosti i spremnosti pružatelja zdravstvenih usluga za prihvaćanjem neovisnog stručnog mišljenja koji se razlikuje od njihovog i posljedičnoj spremnosti na nagodbu sa pacijentima u takvim slučajevima, stabilnosti sudske prakse, zanemarivo malom broju kaznenih postupaka vezanih uz stručnu pogrešku (dekriminalizacija stručne pogreške) i nezaobilaznoj ulozi osiguravajućih društava koja osiguravaju profesionalnu odgovornost zdravstvenih radnika i ustanova.

## II. Temelji odgovornosti zdravstvenih radnika i ustanova za naknadu štete

Temeljni propis koji regulira pitanje naknade štete oštećenom pacijentu je Zakon o obveznim odnosima uz koji u primjenu mogu doći i Zakon o zdravstvenom osiguranju, Zakon o zaštiti prava pacijenata, a moguće i niz drugih propisa kojima se regulira pojedina specifična materija.
Zakon o obveznim odnosima odre uje pravnu osnovu naknade štete, vrste i pojedine vidove štete, krug osoba ovlaštenih na potraživanje, dok visinu neimovinske štete odre uje praksa sudova temeljena na Orijentacijskim kriterijima Vrhovnog suda Hrvatske. Obzirom da je materija medicinske pogreške relativno nova i ne tako česta u praksi sudova, u pogledu pravnog osnova potraživanja došlo je do odre enih razlika u pravnom shvaćanjima, pa je Ustavni sud Hrvatske intervenirao i zauzeo nedvojbeni stav u pogledu temelja odgovornosti za štetu zdravstvenih ustanova: one za štetu odgovaraju po načelu pretpostavljene (presumirane) krivnje i na njima je teret dokazivanja da je njihov radnik (liječnik ili koji drugi zdravstveni radnik) u cijelosti postupao u skladu s pravilima struke i da štete kod pacijenta nije došlo niti zbog najmanjeg propusta radnika.
Za štetu koju radnik počini za vrijeme rada oštećenoj osobi odgovara njegov poslodavac, što bi značilo da za štetu koju zdravstveni radnik počini pacijentu ne odgovara on osobno, već njegov poslodavac (bolnica, etc…). Nakon isplaćene štete poslodavac u roku od šest mjeseci ima pravo regresa od radnika, pod uvjetom da je isti štetu počinio iz grube nemarnosti (nepažnje), teret dokazivanja postojanja grube nemarnosti je na poslodavcu.

**Specifični slučajevi odgovornosti za štetu – ubodni incidenti**

Pored klasičnih situacija odgovornosti za štetu (liječenje protivno pravilima liječničke struke), zdravstvena ustanova odgovara pacijentima i za štetu nastalu prilikom nedovoljno pažljive manipulacije sa pacijentima (npr. ozljeda prilikom transporta), pad sa kreveta i sl.
Posebno su pitanje tzv. ubodni incidenti pri kojima se postavlja pitanje odgovornosti zdravstvene ustanove prema vlastitom radniku za štetu uslijed njegove ekspozicije i mogućnosti nastanka infekcije povezane sa takvim incidentima (hepatitis C, B, HIV). Obzirom da se radi o šteti koju je zdravstveni radnik pretrpio na radu, može se reći da će on od poslodavca imati pravo na naknadu štete ako ovaj ne dokaže da je u cijelosti (uključujući prethodne preventivne mjere i postupak nakon incidenta) postupao u skladu sa zakonskim propisima i dobrom praksom, te da na njemu (poslodavcu) nema ni najmanje odgovornosti za ono što se njegovom radniku dogodilo. Teret dokaza je na poslodavcu.

Josip Mađarić, odv.

# INDOLENT B-CELL LYMPHOPROLIFERATIVE DISEASES OF THE GASTROINTESTINAL TRACT

Slavko Gašparov

University Hospital Merkur, University of Zagreb, School of Medicine Zagreb, Croatia

Primary GI lymphomas make up 5% to 10% of all primary GI neoplasms. Neverthless, the GI tract is the most common site of extranodal lymphomas, with increasing incidence worldwide.The stomach comprises most of these cases. Approximately 30% arising in small intestine, most of which are in the proximal portion. Ten percent occur in the large intestine. Oral lymphomas are rare, and esophageal lymphomas are exceedingly rare.
Indolent B-cell lymphomas of GI tract includes Extranodal marginal zone lymphoma („MALT lymphoma“) – EMZL and Follicular lymphoma of the intestines (FL).
Gastric MALT lymphoma is a rare extranodal marginal zone B cell lymphoma that originates in the stomach, accounting for 40% to 50% of primary gastric lymphoma, 20% to 40% of extranodal lymphoma, 4% to 9% of all malignant lymphoma and 1% to 6% of all gastric malignancies. Most cases occur in adults with a median age of 61and a slight female preponderace. The other rare sites of the GI tract of MALT lymphoma are oral cavity, esophagus (gastro-esophageal junction), small intestine and large intestine. MALT lymphoma is seen less commonly in the intestines than in the stomach, representing overall approximately 5% of small intestinal and approximately 25% of colorectal lymphoma cases. MALT lymphomas does show a propensity to occur synchronously or as a recurrence at other mucosal sites.
Many studies have revealed a strong positive correlation between *Helicobacter pylori* (H. pylori) infection and gastric MALT lymphoma and have demonstrated that complete pathological remission in 50% to 100% of patients with H. pylori positive early stage gastric MALT lymphoma can be achieved through H. pylori eradication. The CagA protein, encoded by the cytotoxin-associated gene (cag) patogenicity island, is one of the most important H. pylori virulence factors. CagA- specific mucosal IgA and IgG antiboides occur in almost all patients with H. pylori-associated gastric MALT lymphoma. Cag A deregulated several pathways in both tyrosinase phosphorylatin-dependent and –independent manners, and thereby promotes lymphomagenesis. There are also four main recurrent chromosomal translocations associated with the pathogenesis of MALT lymphomas. The t(11;18) (q21:q21) translocation is the most common, occuring in 15-40% of all MALT lymphomas. This translocation represent the fusion of the apoptosis inhibitor 2 gene - BIRC2 (API2) and the MALT lymphoma associated translocation 1 (MALT1) gene. It is restricted to MALT lymphomas and has not been found in nodal or splenic marginal zone lymphomas. It has also been associated with cases that do not respond to H. pylori eradication.
The neoplastic cellular elements of MALT lymphoma, consist of a mixture of small to medium lymphocytes with a moderate amount of cytoplasm and round to irregular nuclear contours, with varying numbers of large transformed lymphocytes and monotypic plasma cells. The tumour cells are CD20+, PAX5+, CD5-, CD10-, CD23-. Aberant co-expression of CD43 can be seen in up to 40% of cases. Infrequent cases are CD5+. MALT lymphoma have an indolent natural course and are slow to disseminate. The majority of patients present with stage I or II disease.
Primary intestinal FL is distinct variant accounting for 1-9% of primary intestinal lymphomas. Its distincitve features include usually localized stage, histological grades 1-2, indolent clinical course and a favourable prognosis. Most cases are a low Ki67 proliferation indeks and have CD10+, BCL6+ and BCL2+ immunophenotypes similar to that of nodal FL.

Intestinal FL despite its marked resemblance to nodal FL, including BCL2 translocation appears to have distinct molecular pathogenesis. It is shown overexpression of proinflammatory chemokine CCL20 and its receptor CCR6 in duodenal FL compared to nodal cases, suggesting that an inflammatory background may play an important pathogenic role. In contrast to nodal FL, primary intestinal FL express the mucosa homing receptor α4β7 integrin. It is suggested that the cell of origin of duodenal FL is a B cell with t(14;18)/IGH-BCL2 that undergoes antigenic stimulation in the intestinal mucosa. In this environment, B cells express the caracteristic homing receptors that are involved in the restriction of the neoplasm in the intestinal mucosa.

Keywords: EMZL, MALT, intestinal FL

# ULOGA BRZE DIJAGNOSTIKE U LIJEČENJU INFEKCIJA UZROKOVANIM *CLOSTRIDIUM DIFFICILE*

Iva Butić

Zavod za kliničku mikrobiologiju, Klinika za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“, Zagreb

*Clostridium difficile* je jedan od najčešćih uzročnika bolničkih infekcija s visokim postotkom morbiditeta i mortaliteta posebno kod starijih osoba. Često kolonizira crijeva u tijeku ili nakon antimikrobne terapije uzrokujući postantimikrobne proljeve (pseudomembranozni enterokolitis). Početkom ovog stoljeća zabilježena je povećana učestalost infekcija s težim kliničkim slikama. Dokazano je širenje „opasnih“ epidemijskih sojeva, ribotipova 027 i 078, koji se povezuju s kliničkom slikom toksičnog megakolona te nerijetko i smrtnim ishodom. Broj hospitalizacija se povećao tri puta, a stopa smrtnosti 400%. U Hrvatskoj je prošle godine dokazana prva infekcija hipervirulentnim sojem (ribotip 027) kod starije osobe. Ove godine je već dokazano nekoliko infekcija ribotipom 027 od čega je jedan soj izoliran kod djeteta. S obzirom da se radi o životno ugrožavajućoj infekciji koja zahtijeva i kontaktnu izolaciju izuzetno je važna brza dijagnostika ovog patogena. Na ishod liječenja značajno utječe pravovremeno započeta antimikrobna terapija. Zbog izrazitog epidemijskog potencijala ovog patogena jako je važno započeti s mjerama za sprječavanje širenja infekcije koje uz standardne metode kontaktne izolacije uključuju i pranje ruku sa sapunom (alkoholni dezinficijensi nisu učinkoviti kod infekcija sporogenim bakterijama). Da bi se što prije identificirali i izolirali kliconoše potrebna je brza i visoko osjetljiva detekcija prisutnosti toksikogenih sojeva *Clostridium difficile* u stolici. S obzirom na veću osjetljivost molekularne dijagnostike smjernice Europskog društva za kliničku mikrobiologiju i infektivne bolesti (eng. European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases, ESCMID) preporuča dokazivanje toksina molekularnim metodama, a ne imunoenzimskim testovima. S obzirom na visoku cijenu koštanja molekularnih testova najprihvatljivija opcija je u prvom koraku učiniti probirni test (screening) za dokaz antigena bakterije (glutamat dehidrogeneza, GDH). Samo GDH pozitivni uzorci se dalje testiraju na prisutnost toksina A i/ili B. Standardnim metodama dijagnostike (toksigena kultura i test neutralizacije na staničnoj kulturi) rezultati su dostupni za nekoliko dana dok su metodama molekularne dijagnostike dostupni unutar nekoliko sati što je od iznimne važnosti za rani početak liječenja. Osim povećane stope smrtnosti i učestalih recidiva, infekcije s *Clostridium difficile* produljuju boravak u bolnici i znatno povećavaju troškove liječenja što još više naglašava važnost brze i pouzdane dijagnostike ovog patogena.

Ključne riječi: *Clostridium difficile*, hipervirulenti soj, molekularna dijagnostika, kontaktna izolacija

# THE INTERNATIONAL FEDERATION OF BIOMEDICAL LABORATORY SCIENCE

Tom Stowe[1]

[1]IFBLS, President

The International Federation of Biomedical Laboratory Science (IFBLS) was founded in 1954 by Elizabeth Pletscher and her Swiss colleagues. Current President, Tom Stowe will briefly review the history of IFBLS and explain how the organization operates. He will discuss some of the roles of IFBLS, as well as some of our accomplishments. Highlights of ongoing and future projects will be presented. Finally, Tom will review the current state of our Profession with a global perspective.

# EPBS: FACILITATING REALISATION OF A SHARED VISION FOR BIOMEDICAL SCIENTISTS IN EUROPE.

MarieCulliton [1,2] Anne Berndt[1,3], Anneke Geurts-Moespot[1, 4], Sonia Daadoucha-Perroud [1,5], Barbara Kappeller[1,6], Paulo Polónio[1,7], Fernando Mendes [1,7]

[1]European Association for Professions in Biomedical Sciences, Brussels, Belgium, [2]The Academy of Clinical Science and Laboratory Medicine, Dublin, Ireland., [3]Vårdförbundet the Swedish Association of Health Professionals, Stockholm, Sweden, [4]Nederlandse Vereniging van bioMedisch Laboratoriummedewerkers, Utrecht, Netherlands., [5]Labmed Schweiz Suisse Svizzera, Bern, Switzerland., [6]Biomed Astria-Österreichischer Berufsverband der Biomedizinischen AnalytikerInnen, Vienna, Austria., [7]Superiors Health Technicians in the Area Diagnostic and Therapeutic Union, Porto, Portugal

The European Association for Professions in Biomedical Science (EPBS) represents >60,000 Biomedical Scientists from 21 countries in Europe. EPBS has adopted the ethics policy of IFBLS and has a Memorandum of Agreement with the IFBLS and each supports the others endeavours.
EPBS has developed a shared vision of Biomedical Scientists as Diagnostic Partners in Healthcare, first proposed by our Danish colleagues in dbio. To support its members the EPBS has developed a policy on Education Standards for entry to the profession and a guidance document for educators to transition to that standard. To support Biomedical Scientists to fulfil the role of Diagnostic Partner the EPBS is ensuring that the European ESCO project for knowledge, skills and competencies accurately reflects the entire spectrum of the profession. This is complemented by the participation of EPBS in CEN-CENELEC Advisory Board for Healthcare Standards.
A Diagnostic Partner does more than produce results on submitted specimens. They engage with clinicians and service users to ensure that the correct investigations are provided to a quality standard and interpreted in light of the clinical presentation. This may involve members leaving the laboratory and engaging directly with the clinical team. In other cases this involved Biomedical Scientists undertaking roles that have previously been reserved for other professions such as Medical Doctors. Post Graduate education is frequently required to fulfil this role, either through Master's Degree qualifications or Professional Competency Programmes.
To ensure realisation of this vision EPBS is engaging with member associations in Europe, educators and government departments. It is ensuring that the educational opportunities exist for all Biomedical Scientists in Europe, and beyond. It is organising meetings associated with its annual meeting addressing the topics of Vision, POCT and in 2016 Continuous Professional Development.The work in EPBS demonstrates how regional interests and needs of Biomedical Scientists can be identified and addressed. The learning of one region can then be used to benefit other regions and contribute to the development of IFBLS.

# ERASMUS MUNDUS JOINT MASTER DEGREE IN BIOMEDICAL LABORATORY SCIENCES – THE NEXT LEVEL OF BIOMEDICAL LABORATORY SCIENCES

Fernando Mendes[1, 2, 3], Steve Meaney[4, 5], Camilla Hesse[6], Margareta Jernås[6], Anne Berndt[1], Anneke Geurts-Moespot[1], Barbara Kappeller[1], Paulo Polónio[1], Sonia Daadoucha-Perroud[1], Armando Caseiro[2], Veronika Stefanik[7], Christine Schnabl[7], Marie Culliton[1, 8, 9]

[1]European Association for Professions in Biomedical Sciences, Brussels, Belgium; [2] Inst Politec Coimbra, ESTeSC – Coimbra Health School, Departamento de Ciências Biomédicas Laboratoriais, fjmendes@estescoimbra.pt, Coimbra, Portugal; [3] Superiors Health Technicians in the Area Diagnostic and Therapeutic Union, Porto, Portugal; [4] Biomedical Science Department, Dublin Institute of Technology, Dublin, Ireland; Technology, Dublin, Ireland; Environmental Health Sciences Institute, Dublin Institute of [6] Department of Clinical Chemistry and Transfusion Medicine, Sahlgrenska Academy, University of Gothenburg, Gothenburg, Sweden; [7] Biomedical Science Department, University of Applied Sciences Campus Vienna, Austria; [8] Department of Pathology and Laboratory Medicine National Maternity Hospital, Dublin, Ireland; [9] Academy of Medical Laboratory Sciences, Dublin Ireland.

The European Joint Master Degree in Biomedical Laboratory Sciences (EMJMD-MARBLE) represents a step-change in the provision of Master Degree programmes inbiomedical laboratory Sciences (BLS) in Europe and will be a unique educational offeringin this domain globally. Students enrolling on this programme will have a unique educational experience of a truly international nature. In their first year they will spend time in each of the four partner countries as well as engaging in continuous E-learning provided by all partners as a whole. During the second year students will focus on more specialist topics, namely by having a specialist clinical practice and by carrying out a specialized research project leading to a Master's thesis. This will be carried out in a European country of their choice or in collaboration with one of the Associated Partners (AP) who represent potential employers in keysectors such as industry, research centers, the health sector,academia and professional agencies. The expertise, skills, competence and connections that the students obtain during this programme will help to equip them to meet the current and future needs of the labour market (e.g. Graduates of this programme will be competent to take on roles as diagnostic partners in healthcare). This programme will involve cooperation between leading educational providers in Austria (Fachhochschule CampusWien), Ireland (Dublin Institute of Technology), Portugal (Polytechnic Institute of Coimbra-ESTeSC-Coimbra Health School) and Sweden (University of Gothenburg) as well as the umbrella European Association that represents these professionals in Europe, EPBS.

The development process and structure of this programme will be outlined. The general aims of the EMJMD-MARBLE are the following:

• to support the EPBS policy that progression to higher level degrees of Masters and PhD is an integral part of the education and training of Biomedical Scientists, recognising that such opportunity is not available in all EU countries;

• to promote a quality offer in higher education with a distinct European added value, attractive both within the European Union and beyond its borders, with a view to creating and supporting centres of excellence

• to contribute to the enhancement of healthcare services and improved patient safetyby developing the qualification of Biomedical Scientists to have the appropriate

knowledge, skills and competencies to develop and implement new advanced technologies and lead healthcare research.

• to encourage and enable highly qualified graduates and scholars from all over the world to obtain qualifications and/or experience in the European Union and to gain International experience;

• to develop more tructured co-operation between European Union and partner country institutions and greater European Union outgoing mobility as part of European study programmes;

• to improve accessibility and enhance the profile and visibility of higher education in the European Union;

# STUDYING AND WORKING AS A BIOMEDICAL LABORATORY SCIENTIST IN BELGIUM

I.Tytgat[1]

[1]Thomas More University College, Unit Life Sciences & Chemistry, Biomedical Laboratory Technology, Belgium

In Belgium officially three languages are spoken: in Flanders Dutch, in the southern part Walloon French and in a small part German. Every region has its own government and own ministries. There is also a federal government with federal ministries and federal laws. I will focus on the Dutch and the French speaking region. Looking to the domain of Biomedical sciences the decisions about education are made by the regional government, health care on the other hand is still a federal domain. This is the first issue that complicates the life of a biomedical laboratory scientist.

Secondly looking to the studies of Biomedical sciences there are two options: you can choose for a bachelor and master at academic level, absolutely reserved for the universities. On the other hand, a professional bachelor in the biomedical laboratory technology can be studied at a university college. Universities are focused on the theoretical knowledge with a small part of practical exercises. In the professional programme on the other hand, the given courses are more practical with the objective to educate people that can start to work immediately afterwards. After the professional bachelor students can obtain a master's degree via a specific programme.

In Flanders, studying a professional bachelor at a university college takes three years. In the second year the students have to make a choice between medical laboratory technology (MLt) and pharmaceutical and biological laboratory technology (FBLt). The first group of students mentioned are prepared to work in a medical environment, the latter are prepared to work in the industry or in research labs. This last option does not exist in the French speaking part.

Concerning the work in a medical lab a recognition and visum is required from the second of December 2014. This recognition is only given to those who finish the professional bachelor in the medical laboratory technology. A biomedical scientist with a university degree or a biomedical laboratory scientist from the option FBLt is not allowed to perform any kind of analysis in a medical lab when not having obtained the recognition.

Conclusively we have to say that at the moment a commission is working on the law, listing up the activities allowed to be performed by a MLt, suggesting educational changes and making it clear who can or may work in a medical lab. Hopefully the evolution will be in favor of the profession and their practitioners.

# MEDICINSKO-LABORATORIJSKA DJELATNOST PRIJE I NAKON ULASKA RH U EU

Jasna Matić[1], Ernevaza Kopačin[1], Neven Sučić[1]

[1] Hrvatska komora zdravstvenih radnika, Strukovni razred za medicinsko laboratorijsku - djelatnost

Medicinsko-laboratorijska dijagnostika se izvodila kroz dvogodišnji studijski program od 1966. godine kojim se je stjecala tzv. „viša stručna sprema“ da bi se akademske 1999/2000 prešlo na trogodišnji.
Bolonjska deklaracija i Direktiva 2005/36 su unijeli revolucionarne promjene u područje medicinsko laboratorijske-djelatnosti kako kroz obrazovanje tako i kroz reguliranost struke kroz Direktivu.
Sukladno Bolonjskom procesu, obrazovanje se odvija kroz dva ciklusa: trogodišnji preddiplomski i nastavno na njega dvogodišnji diplomski studij medicinsko-laboratorijske dijagnostike.
Struka ima multidisciplinarni karakter, regulirana je Zakonom o djelatnostima u zdravstvu kojim je uređen sadržaj i način djelovanja, standard obrazovanja, uvjeti za obavljanje djelatnosti, dužnosti, i stručni nadzor nad radom zdravstvenih radnika medicinsko-laboratorijske djelatnosti. To je ogroman napredak u odnosu na ranije zakonodavstvo kojim je medicinsko-laboratorijska dijagnostička djelatnost bila regulirana samo u segmentu medicinsko-biokemijske djelatnosti i to kroz Zakon o medicinsko biokemijskoj djelatnosti.
Uspostava obrazovne vertikale i reguliranost struke omogućila je učlanjenje u Europsku krovnu organizaciju za profesionalce u biomedicnskoj znanosti (EPBS) i u „Internacionalnoj federaciji za biomedicinsko-laboratorijske znanosti" (IFBLS) čime se dobio legitimitet, zaštita i podrška.
Ulaskom Republike Hrvatske u Europsku uniju 2013. godine, ustrojen je diplomski sveučilišni Studij medicinsko laboratorijska dijagnostika u, znanstvenom području i polju 3.02. (Biomedicina i zdravstvo / Kliničke medicinske znanosti) u trajanju dvije godine čime se zaokružila cjelina obrazovanja.
To je struci donijelo članstvo i povezanost sa međunarodnim udruženjima iz područja biomedicinske laboratorijske znanosti, povezanost se EU visokim učilištima te mogućnost upisa na Master studij u Coimbri (Potugal), Beču (Austrija), Göteborgu (Švedska) i Dublinu (Irska) u okviru MARBLE-a (European Joint Master Degree in Biomedical Laboratory Science) te sukladno Direktivi 2005/36, umreženost u Informacijski sustav unutarnjeg tržišta (Internal Market Information System – IMI).

**Ključne riječi**: Bolonjska deklaracija, Direktiva 2005/36, medicinsko-laboratorijska djelatnost

# CIRCULATING microRNAs AS DIAGNOSTIC AND PREDICTIVE CANCER BIOMARKERS

Ljubica Glavaš-Obrovac

Faculty of Medicine, J.J. Strossmayer University of Osijek, Osijek, Croatia

MicroRNAs (miRNAs) are a class of evolutionarily conserved small non-coding RNAs that are involved in the regulation of gene expression and protein translation, and they play critical roles in the cell's growth and differentiation.

Various cancers were shown to leave specific miRNA fingerprints in the blood of patients suggesting that cell-free miRNAs could serve as non-invasive biomarkers for the detection or monitoring of cancer and putative therapeutic targets.

Since miRNAs are released to extracellular spaces, and are extremely stable in body fluids the use of miRNAs in the biomarker field is well founded.

However, currently their use is limited by conflicting data between studies due to lack of standardisation in methodology and the lack of suitable reference genes for normalisation. It is unlikely that any single miRNA will achieve the desired level of diagnostic or prognostic accuracy, as evidence is increasing that increased levels of particular miRNAs can be associated with several different types of tumour.

A precondition to developing circulating miRNA-based diagnostics is the ability to quantify miRNAs from plasma and serum with sufficient sensitivity and precision. The precise measurement of these miRNAs has been associated with many challenges, including those related to pre-analytic variation such as specimen collection, factors influencing RNA extraction efficiency and technical issues involved in successful qRT-PCR, data analysis and normalisation as well.

This presentation summarizes recent progress in the use of circulating miRNAs as diagnostic, prognostic, and predictive biomarkers of carcinoma or indeed as targets for cancer treatment.

**Keywords:** microRNA, biomarker, cancer, prognostic, diagnostic

# POGREŠKE U PATOHISTOLOŠKOM LABORATORIJU

B. Krušlin

KBC Sestre milosrdnice, Klinički zavod za patologiju Ljudevit Jurak, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

Pogreške u patologiji mogu nastati u preanalitičkoj, analitičkoj i postanalitičkoj fazi i imati ozbiljne posljedice za zdravlje bolesnika. U patohistološkom laboratoriju pogreške nastaju u preanalitičkoj fazi i to u svakom stadiju počevši od prijema materijala i identifikacije uzorka, preuzimanja i fiksacije. Potom slijede moguće pogreške u uklapanju uzoraka u parafin, rezanju uključujući i manipulaciju s materijalom u kupki i prenošenju na stakalca te naposlijetku u rutinskom bojenju te specijalnim metodama i imunohistokemiji. Prema podacima iz literature otprilike 70% svih pogrešaka nastane u preanalitičkoj, 20% u analitičkoj i 10% u postanalitičkoj fazi. Od pogrešaka u preanalitičkoj fazi otprilike trećina nastane prije preuzimanja materijala, 1/3 za vrijeme preuzimanja uzoraka i označavanja blokova te 1/3 tijekom rezanja blokova i izrade i bojanja tkivnih rezova. Glede identifikacije primljenog materijala procjena vjerojatnosti nastanka pogreške iznosi otprilike 1/1000 krivo obilježenih uputnica odnosno materijala, 1,7/1000 pogrešaka u označavanju blokova i 1/1000 u obilježavanju histoloških preparata.
Kako bi se smanjila mogućnost nastanka pogrešaka valjalo bi ponajprije skrenuti pozornost medicinsko laboratorijskim djelatnicima na različite uzroke i moguće posljedice. Potom proces obrade valja automatizirati koliko je to moguće u određenim uvjetima. Važan postupak koji bi mogao značajno smanjiti jednu od najozbiljnijih grešaka je uvo enje bar kodova za identifikaciju pacijenata i njihovih biopsija.
U zaključku valja naglasiti da postoji niz različitih mogućnosti nastanka pogrešaka u preanalitičkoj fazi od kojih su najznačajnije neadekvatna identifikacija te nestanak materijala dok se većina pogrešaka u rezanju i bojenju može riješiti jednostavnim ponavljanjem postupaka, poglavito ako se radi o većim uzorcima.
Naposlijetku treba napomenuti da su pogreške moguće i da se događaju u svim laboratorijima, me utim važnost kontrole kvalitete i svijesti o odgovornosti za učinjen rad mogu značajno smanjiti učestalost takvih pogrešaka pogotovo onih koje ugrožavaju zdravlje pacijenata, a eventualno mogu dovesti i do sudskih postupaka.

# KLINIČKA I SUDSKOMEDICINSKA VAŽNOST PATOLOŠKE PRETRAGE POSTELJICE

Kos Marina

Klinički zavod za patologiju „Ljudevit Jurak“, KBC „Sestre milosrdnice“ Zavod za patologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Sudske tužbe protiv liječnika u zapadnim zemljama vrlo su uobičajene, a u posljednjih nekoliko desetljeća njihov je broj i u Republici Hrvatskoj sve veći. Premda se u određenom broju slučajeva ne može isključiti stručna ili pogreška vezana za elektronsku opremu, u mnogim slučajevima su za lošije postnatalno stanje djeteta ili za smrt in utero odgovorne patološke promjene posteljice. Upravo zbog toga se u svakom sudskom postupku protiv porodničara, bez obzira na to je li trudnoća završila pobačajem, mrtvorođenošću, novorođenačkom smrću ili ozljedom djeteta, ne može dovoljno naglasiti važnost patohistološke pretrage posteljice i odgovarajućeg, pravilno i jasno napisanog nalaza. Usprkos tome, patološka pretraga posteljice i dalje je najslabije korišteni dio perinatalne patologije. Uzrok tome jest vjerojatno u povijesno naglašavanoj ulozi nalaza perinatalne obdukcije i neodgovarajućem obrazovanju patologa u tom segmentu patologije, što dovodi do neodgovarajućih i slabo razumljivih patoloških nalaza posteljice. O tome koje posteljice treba uputiti na patološku pretragu ne odlučuje patolog, već porodničar koji je vodio trudnoću ili porođaj. Indikacije za upućivanje posteljice na patološku pretragu nisu jednoobrazne i razlikuju se u različitim zemljama, no određeni konsenzusi dogovoreni su na sastancima na kojima su sudjelovali stručnjaci različitih struka. Osnova kvalitetne patološke pretrage posteljice, kao i u slučaju drugih organa je pravilno popunjena uputnica, koja sadrži gestacijsku dob i kliničku dijagnozu. Najbolje bi bilo da uputnica sadrži i podatak o tjelesnoj masi novorođenčeta i Apgar indeksima. Spol, osim u slučajevima višeplodnih trudnoća, nije patologu važan. Patolog utvrđuje makroskopske promjene posteljice, veličinu i masu, i uzima uzorke slobodnog ruba plodovih ovoja, pupkovine i tkiva posteljice za patohistološku analizu. Najbolje bi bilo kada bi o svakoj posteljici (i perinatalnoj obdukciji) postojala i fotodokumentacija. U slučaju da patolog nije dostupan, posteljica se može pohraniti u hladnjaku do 7 dana, ili staviti u fiksativ u odgovarajućoj količini. Duboko zamrzavanje posteljice treba izbjegavati, jer uvelike mijenja mikroskopsku sliku. Posebno je važno da porodničar prihvati činjenicu kako u posteljici često postoji kombinacija nalaza, koja u konačnici može dovesti do njezine kliničke insuficijencije i ugroziti zdravlje ili čak život fetusa. U svim slučajevima mrtvorođenosti uz plod je na obdukciju potrebno uputiti i njegovu posteljicu, jer je bez pretrage posteljice najčešće nemoguće utvrditi slijed događaja koji je doveo do smrti. U svakom parničnom postupku jako je važna uloga stalnih sudskih vještaka medicinske struke, pri čemu se osim kliničke medicinske dokumentacije mora se zatražiti uvid u patohistološki nalaz posteljice. Zbog toga se dokumentacija koja ne sadrži odgovarajući patohistološki nalaz posteljice treba smatrati nepotpunom. U slučaju da je posteljica poslana na patohistološku analizu, no vještaku nalaz nadležnog patologa nije jasan, može se tražiti ponovni pregled tkiva posteljice iz arhiviranog materijala.

# 1st TRIMESTER SCREENING

Marie Culliton [1, 2, 3]

[1]European Association for Professions in Biomedical Sciences, Brussels, Belgium, [2]The Academy of Clinical Science and Laboratory Medicine, Dublin, Ireland. [3]Chief Medical Scientist, National Maternity Hospital, Dublin, Ireland.

The monitoring of fetal wellbeing has changed significantly over the past decade and we are now entering yet another exciting era.
The laboratory plays an important part as a member of the diagnostic team in monitoring fetal abnormalities and wellness. The combination of ultrasound measurements of fetal length and the thickness of the nuchal fold at the back of the neck is combined with biochemical markers of Free β HCG and Pregnancy Associated Placental Protein A (PAPP-A). This combination is used to calculate the risk of trisomy of Chromosomes 23, 18 and 13 at between 11-13 weeks gestation. This then triages the women for more invasive confirmatory Chorionic Villus Biopsy to confirm the presence, or absence, of Down's, Edwards or Patau's syndromes.
More recently the use of circulating cell free DNA has been used as a screening test replacing the combination of ultrasound and biochemical markers for the early detection of these conditions.
PAPP-A and Placental Growth Factor (PLGF) can also be used to monitor fetal wellbeing and predict the development of Pre-eclampsia or Intrauterine Growth Retardation.

# PRAVNO UREĐENJE POSTUPAKA S POBAČENIM PLODOM / MRTVOROĐENČETOM

A. Klarić[1], M. Cvitković[2]

[1] Hrvatska komora zdravstvenih radnika, Zagreb, Hrvatska, ante.klaric@hkzr.hr
[2] Hrvatska liječnička komora, Zagreb, Hrvatska; KBC Zagreb, Klinika za pedijatriju, mcvitkov@kbc-zagreb.hr

Imaju li pravo roditelji na dostojno postupanje s pobačenim plodom, ili treba li s druge strane postojati dužnost institucija dostojno postupati s pobačenim plodom. Naputak Ministarstva zdravlja o postupanju s otpadom koji nastaje pri pružanju zdravstvene zaštite i Pravilnik o uvjetima i načinu obavljanja mjera za sprječavanje i suzbijanje bolničkih infekcija postoje kao temeljni pravni osnov kojima se definiraju postupci s pobačenim plodom. Predmetnim se otvaraju različita pitanja polazeći s medicinskog, etičnog i pravnog aspekta. Medicinski aspekt percepcije navedenog ovdje je zapravo najjasniji. Plod od dvadesetdrugog tjedna praktično je formirano „dijete“ u pogledu njegove fizionomije i određenih razvojnih funkcijskih elemenata. Etički aspek tretiranja pobačenog ploda apsolutno je dvojben, te je zavisan od pojedinačnih shvaćanja, pa se u trenutnoj konstelaciji etičkih standarda i vrijednosnih usuda isti teško može razriješiti. S druge strane onaj tko smatra da život počinje začećem nema nikakvih dvojbi oko tematske problematike definiranja ploda kao „otpada“. I treći aspekt prava i pravnih pravila koji pak proizlazi iz institucionalizacije i utvrđenja shvaćanja iz prethodnih teorijskih i praktičnih domena, a koji bi ujedno iste trebao nadopunjavati, posve je dvojben i adekvatno nedefiniran, što sve zajedno otvara jasnu i neizbježnu potrebu kreiranja novih kriterija, pojmova i instituta kod postupanja sa pobačenim plodom. I kao zadnje možemo uopćeno postaviti temeljno pitanje može li medicina, etika a onda i pravo utvrditi generalne granice kojim danom pobačeni plod postaje mrtvorođeno dijete.

Ključne riječi: pobačeni plod, otpad, mrtvorođenče

# UZROČNA VEZA KAO PRETPOSTAVKA ODGOVORNOSTI LIJEČNIKA ZA ŠTETU KOD "NEŽELJENOG ROĐENJA" DJETETA S TEŠKIM MALFORMACIJAMA

Bukovac Puvača, M.[1]

U području odgovornosti liječnika za štetu u poredbenom pravu posebnu pažnju izazivaju sporovi o odgovornosti za štetu zbog neželjenog rođenja djece. Slučajevi neželjenog rođenja ("*wrongful birth*") obuhvaćaju dvije grupe slučajeva: one u kojima je dijete neželjeno bez obzira na zdravstveno stanje, te one u kojima je dijete rođeno s teškim tjelesnim ili duševnim manama i zato je postalo neželjeno. Neželjenim životom ("*wrongful life*") pravna znanost i sudska praksa nazivaju slučajeve u kojima zahtjev za naknadu štete zbog svog života s teškim malformacijama, prema liječniku koji te malformacije nije otkrio prije njegova rođenja, postavlja samo dijete. U radu je analizirana austrijska, njemačka, talijanska i francuska sudska praksa, te odluke Vrhovnog suda Republike Hrvatske o navedenim slučajevima.

Neželjena rođenja i neželjeni životi su po pitanju uzročnosti kao pretpostavke odgovornosti posebno sporni slučajevi jer je u njima liječnička pogreška, ako i kada postoji, "prouzročila" rođenje djeteta, odnosno njegov život, što može dovesti do neprihvatljive kategorizacije ro enja djeteta kao štete. U ovu se uzročnu vezu nužno upliće i mogući prekid trudnoće kao karika bez koje se njezino postojanje ne može utvrditi. S gledišta odštetnog prava, naime, prekid trudnoće u ovakvim slučajevima predstavlja radnju sprečavanja nastanka štete, što je, naravno, zbog vrijednosti o kojima se radi i te kako sporno.

Kada se pitanje postojanja uzročne veze pozitivno riješi, problem postaju vrste i opseg šteta obuhvaćenih odgovornošću liječnika, oko kojih sudska praksa i pravna teorija poredbenog prava još nisu usuglasile mišljenja. Primjena općih pravila odštetnog prava može dovesti do rezultata koji su samo na prvi pogled pozitivni za pacijente. Odgovornost liječnika za svu štetu u ovakvim slučajevima može imati vrlo ozbiljne posljedice, poput nepotrebnog upućivanja na razne testove, od kojih neki i nisu potpuno bezopasni, obavještavanja o svakoj i najmanjoj sumnji u nepravilnost koje može trudnoj ženi štetiti i ugroziti njezino zdravlje i daljnji tijek trudnoće, predlaganju pobačaja i onda kada je vjerojatnost rođenja djeteta s malformacijom izuzetno mala itd. Liječnici, naravno, ne mogu biti oslobođeni odgovornosti za svoje pogreške pri vođenju i kontroli trudnoće, ali se ni sva šteta roditelja ne bi trebala na njih prebaciti. Roditelji trebaju imati pokrivene sve povećane troškove uzdržavanja i odgoja djeteta rođenog s oštećenjima u okviru zdravstvenog i socijalnog osiguranja, dok se odgovornost liječnika, kada se ona utvrdi treba usmjeriti na neimovinsku štetu (povredu prava osobnosti).

Ključne riječi: neželjeno rođenje, neželjeni život, uzročna veza, odgovornost liječnika

[1] Pravni fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka, Hrvatska

# MEDICINAE LEGE – OPTIMUS AMICUS, PESSIMUS INIMICUS (MEDICINSKO PRAVO – NAJBOLJI PRIJATELJ, NAJGORI NEPRIJATELJ)

J. Čizmić[1]

Medicinsko (zdravstveno) pravo je grana prava koja se odnosi na medicinsku djelatnost. Čini ga skup pravnih pravila kojima se ure uje: medicinska djelatnost, status osoba koje tu djelatnost obavljaju, njihov me usobni odnos, odnos s korisnicima usluga, zaštitu prava čovjeka na zdravlje, zdravstvenu zaštitu i zdravstveno osiguranje, odgovornost i prava zdravstvenih djelatnika i organizacija, organizaciju zdravstva kao javne djelatnosti od posebnoga društvenog interesa.
Pravo i medicina imaju puno zajedničkih točaka. Zajednički cilj medicine i prava jest humanost, pošto se staraju o životu i zdravlju ljudi, a u niz područja se medicinska i pravna znanost i praksa isprepliću i nužno koegzistiraju.
Zdravstvena djelatnost, kao predmet proučavanja medicinskog prava, svakim danom postaje sve razvijenija, a pitanja i problemi koji iz te djelatnosti proizlaze sve su brojniji.
Cilj autora je ukazati na značaj poznavanja medicinskog prava i propisa za status i rad zdravstvenih radnika.
Izvore medicinskog prava mogli bismo svrstati na: izravne i posredne, nacionalne i međunarodne; one koje donose državni organi, razne ustanove i druge pravne osobe, komore/udruge zdravstvenih djelatnika i dr. Najznačajniji su: Zakon o zdravstvenoj zaštiti i Zakon o zaštiti prava pacijenata, a za područje medicinsko-laboratorijske djelatnosti - Zakonom o djelatnostima u zdravstvu. Izvor su i vrlo brojni (provedbeni) podzakonski propisi, koje ponajviše donose Ministarstvo zdravstva i HZZO (uredbe, pravilnici, odluke), tzv. staleško pravo (propisi komora, profesionalnih udruga i organizacija zdravstvenih djelatnika, deklaracije me unarodnih strukovnih organizacija - npr. statuti strukovnih komora, pravila pojedine medicinske profesije, kodeksi etike i/ili deontologije pojedine profesije), tzv. autonomni izvori (unutarnji propisi - statuti, pravilnici, poslovnici, kolektivni ugovori, rješenja, opći akti zdravstvenih ustanova). Izvor su i višestrani i bilateralni međunarodni sporazumi.
Poznavanje medicinskog prava nužno je za medicinare i pravnike zbog: brzog i kvalitetnog rješavanja multidisciplinarnih problema, promicanja statusa i ugleda tih dviju struka, sudjelovanja kod izrade i donošenja novih propisa iz područja zdravstva; educiranja zdravstvenih radnika radi prevencije pogrešaka, smanjenja trenda primjene tzv. *defensive medicine;* boljeg ostvarivanja zajamčenih prava pacijenata. Stručnjaci iz područja medicinskog prava trebali bi svojim radom (sudjelovanje u radu strukovnih komora, udruga, ministarstava, HZZO-a, bolnica, domova zdravlja i drugih zdravstvenih ustanova, rješavanjem sporova u kojima je potrebno njihovo multidiciplinarno znanje, vještačenjem i sl.) znatno pridonijeti uspostavljanju i razvitku sudske i upravne prakse na ovom području, što bi trebalo rezultirati i većom pravnom sigurnošću, a značajan doprinos trebali bi dati i razvitku medicinskopravne znanosti. Nužno je provesti kodifikaciju na području medicinskog prava, radi bolje preglednosti relevantnih propisa, njihove učinkovitije primjene i veće pravne sigurnosti.

Ključne riječi: medicinsko pravo, zdravstveno pravo

[1] Pravni fakultet Sveučilišta u Splitu, Split, Hrvatska

## OBAVEZNO OSIGURANJE OD ŠTETE, SVE ŠTO NE PIŠE ILI PIŠE MALIM SLOVIMA

**Što treba znati o obveznom osiugranju od odgovornosti za štetu u provođenju zdravstvene zaštite?**

Za predstavnike medicinskih profesija, bez obzira u kakvim institucijama ili ustanovama djeluju, izraženo je pitanje profesionalne odgovornosti te su uz profesionalno bavljenje zanimanjem izloženi pokretanju postupka za procjenu njihove odgovornosti. Pokretači tih postupaka su najčešće osobe kojima zdravstveni djelatnici pružaju zdravstvenu uslugu.

**Odgovornost za štetu**

S jedne strane su propisi koji uređuju prava pacijenata i njihovu zaštitu, a s druge strane zakonski propisi, pravila struke i etički kodeksi zdravstvenih djelatnika koji određuju standarde postupanja i njihove obveze pri pružanju usluga pacijentima. Povreda prava pacijenata i postupanje protivno propisanim obvezama i zakonskoj regulativi od strane zdravstvenih djelatnika povlači za sobom obvezu naknade štete koja je nastala iz pružanja takvih usluga bez obzira na različita zvanja i zanimanja koja zdravstveni djelatnici obavljaju u okviru zdravstvene djelatnosti; pravila za odgovornost za štetu su istovjetna. Odgovornost za nastalu štetu vršenjem zdravstvene djelatnosti dovela je do obveznog osiguranja od odgovornosti za štetu koje je regulirano novim Zakonom o zdravstvenoj zaštiti.
Novi ZOZZ u članku 124. stoji da je "Poslodavac obvezan sve zdravstvene radnike koji neposredno u vidu zanimanja pružaju zdravstvenu zaštitu stanovništvu osigurati od štete koja bi mogla nastati u provođenju zdravstvene zaštite".
Ovakva zakonska odredba svakako ide na ruku pacijentima i zaštiti njihovih prava te mogućnost objektivne naknade za pretrpljenu štetu koja može nastati obavljanjem djelatnosti zdravstvene zaštite. Isto tako štiti i medicinske profesionalce od ozbiljnih financijskih rizika koje nosi svakodnevno bavljenje svojim, prije svega, humanim poslom koji je od posebnog značaja za širu društvenu zajednicu.
Ovakvom definicijom zakona postoji obveza osiguranja od odgovornosti a i zamke koje se kriju u postupku osiguranja zdravstvenih ustanova i njihovih djelatnika. Zakon je nedorečen i u drugim segmentima, što znači da je zakonodavac, u ovom slučaju država, propustila priliku definirati 'pravila igre'.
Nedorečenost zakona (zakon je trebao definirati osnovne elemente obveznog osiguranja)
→ Nije propisan minimalni osigurani iznos po štetnom događaju
→ Nije propisan agregatni limit (ukupna obaveza osiguratelja tijekom osiguratelјne godine)
→ Nisu propisani minimalni Uvjeti osiguranja (osiguratelјna pokrića )
→ Nije propisna zapriječna sankcija za one koji se ne pridržavaju Zakona
→ Nije definirano tko provodi nadzor nad provedbom zakonske obveze
→ Nije definirao o kojoj odgovornosti se radi (mogućnost naknade štete proizlazi iz opće (javne) odgovornosti i profesionalne odgovornosti )
*__Amandman 40 na direktivu EU 2005/36/EC__, je definirao obevezu osiguranja od profesionalne odgovornosti a glasi:
→ Izmjena: Dokaz o osiguranju koje garantira profesionalno pokriće naknade štete za onoga koji pruža uslugu, a vezano za usluge pružane u području zemlje domaćina.
Uz to, Zakon definira da je ugovaratelj poslodavac, a osiguranik medicinski djelatnik, da ugovaratelj plaća premiju, a propust ili greška osiguranika je u osiguratelјnom pokriću što znači da zdravstvena ustanova nije osigurana.

Uz ove odredbe i propuste preciziranja osnovnih kriterija prilikom ugovaranja osiguranja od odogovornosti, zakonodavac je ostavo čitav niz otovrenih pitanja na koja treba dati odgovor prilikom sklapanja Ugovora o osiguranju jer će u suprotnom zdravstvene ustanove prije svega a i zdravstveni djelatnici zajedno s pacijentima koji mogu biti oštećeni u provođenju zdravstvene zaštite ostati bez mogućnosti ostvarivanja svojih prava bez obzira što imaju police osiguranja od odgovornosti.
Kada govorimo o općoj ili javnoj odgovornosti, znači da je predmet osiguranja građansko-pravna, izvanugovorna odgovornost osiguranika za štetu uslijed smrti, ozljede tijela ili zdravlja, kao i oštećenja ili uništenja stvari treće osobe.
Pri profesionalnoj odgovornosti predmet osiguranja je građansko-pravna ugovorna (profesionalna) odgovornost osiguranika za štetu nastalu oštećenim osobama zbog neispunjenja, manjkavog ispunjenja ili zakašnjenja u ispunjenju ugovorne obveze osiguranika, uz uvjet da je osiguranik dužan u ispunjenju obveze iz svoje profesionalne djelatnosti postupati s povećanom pažnjom, prema pravilima struke i običajima (pažnja dobrog stručnjaka). Definirano je to i Zakonom o obaveznim odnosima, u kojem se u čl. 1045., st. 1 navodi da 'tko drugome prouzroči štetu, dužan je naknaditi je ako ne dokaže da je šteta nastala bez njegove krivnje' (subjektivna odgovornost), odnosno u st. 3 u kojem se navodi da 'za štetu od stvari ili djelatnosti od koje potječe povećana opasnost štete za okolinu odgovara se bez obzira na krivnju' (objektivna odgovornosti).
Osiguranje od odgovornosti je imovinsko osiguranje, a radi specifičnih karakteristika izdvojeno je u posebnu grupaciju osiguranja.
„Karakteristike ovog osiguranja su da je osigurani slučaj događaj za koji je po bilo kojoj osnovi odgovoran osiguranik radi nastale štete trećoj osobi. Prilikom sklapanja ugovora o osiguranju od odgovornosti ne utvrđuje se vrijednost predmeta već se samo određuje granica obveze iz sklopljenog ugovora, što znači da se ne mogu primijeniti neka načela iz imovinskih osiguranja vezana za svotu osiguranja. U ovoj vrsti osiguranja nema primjene pravila proporcije, i također ono što je važno jest da naknadu dobiva treća osoba“,
Jedna dobra polica osiguranja od odgovornosti treba pokrivati: subjektivnu i objektivnu odgovornost, osobnu odgovornost za djelovanje u timu, timski rad, pružanje prve pomoći i hitne medicinske pomoći, štete koje su nastale za vrijeme trajanja osiguranja, a prijavljene su nakon prestanka ugovora o osiguranju unutar zastarnih rokova, troškove odvjetnika i sudskog postupka u opravdanim, neopravdanim ili pretjeranim zahtjevima za naknadu štete, uključuje isplatu odštetnog zahtjeva do visine osiguranog iznosa, uključujući troškove i kamate, te imovinske i neimovinske štete.
Posebnu pozornost se mora posvetiti kaznenoj, prekršajnoj i disciplinskoj odgovornosti.

**Kaznena odgovornost**

Osim obveze naknade šteta koju mogu imati zdravstveni djelatnici, čiji je rizik sada pokriven osiguranjem od odgovornosti, zdravstveni djelatnici osobno mogu biti izloženi kaznenom, prekršajnom disciplinskom progonu. Smisao postojanja kaznene odgovornosti ogleda se u nastojanju društvene zajednice da zaštiti temeljne vrijednosti zajednice, važna dobra društva i pojedinca, i to izricanjem kaznenih mjera za postupke koji su u suprotnosti s utvrđenim prihvatljivim načinima ponašanja. Kako su pravo na život i zdravlje, kao kategorija, najvažnije vrijednosti pojedinca i zajednice zaštićeni i Ustavom Republike Hrvatske, Kazneni zakon RH predviđa zaštitu od neodgovornog ponašanja profesionalaca medicinske struke.
U kaznenom postupku se prije svega mora nepobitno utvrditi da li je zdravstveni djelatnik počinio neko kazneno djelo vezano za obavljanje profesionalne djelatnosti ili nije. Ako je utvrđeno počinjenje kaznenog djela, propisane sankcije mogu biti financijske (koje se

uplaćuju u državni proračun), a za teža i teška kaznena djela, sankcije su zatvorske. Sud može uz zatvorske sankcije izreći i sigurnosnu mjeru zabrane obavljanja djelatnosti.

**Osiguranje pravne zaštite u kaznenom i prekršajnom postupku**

Bitno je naglasiti da se može ugovoriti osiguranje pravne zaštite u kaznenom, prekršajnom i disciplinskom postupku na način da se pokriju svi troškovi sudovanja, pobijanja, dokazivanja, vještačenja, žalbenog postupka, troškova odvjetnika, sve do pravomoćne sudske presude. Plaća se čak i sudska jamčevina ako dođe do određivanja pritvora, što nije rijedak slučaj kad je posrijedi kazneni progon. Pravna zaštita pruža se angažiranjem odvjetnika eksperata za kazneno pravo, bilo da se osoba, medicinski djelatnik nađe u statusu svjedoka, osumnjičenika, optuženika ili okrivljenika.
Zato je preporuka da se uz osiguranje od odgovornosti ugovori i osiguranje pravne zaštite u kaznenom, prekršajnom i disciplinskom postupku. Naime, osiguranje pravne zaštite i uspješno odbacivanje kaznenih djela koja se stavljaju na teret zdravstvenom djelatniku, a samim tim i oslobođenje od kaznene odgovornosti, predstavlja jedinu pravu preventivu za parnični postupak i moguću odgovornost za naknadu štete.
Kroz osiguranje se mogu prevenirati veliki problemi koji mogu nastati iz obavljanja djelatnosti a samim tim i ublažieti ili u cijelosti otkloniti posljedice istih.

**Nije kišilo kad je Noa počeo graditi Arku (anonimno).**

Certitudo d.o.o. za sastupanje u osiguranju

Andrija Stojanović

# **PREDAVANJA** / LECTURES

# UVOĐENJE PROTOČNE CITOMETRIJE U KLINIČKI ZAVOD ZA LABORATORIJSKU DIJAGNOSTIKU KBC-A RIJEKA

Doris Ožanić[1], Anđela Žic[1], Lidija Bilić-Zulle[1,2]

[1] Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Klinički bolnički centar Rijeka, Rijeka, Hrvatska

[2] Katedra za medicinsku informatiku, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka, Hrvatska

Protočna citometrija je analitička metoda kojoj je glavno obilježje istodobno mjerenje više fizičkih i kemijskih značajki stanica koje u otopini u pojedinačnom nizu prolaze kroz mjerni ure aj. Za razliku od ostalih metoda kojima se dobivaju podaci o prosječnim vrijednostima staničnih značajki u ispitivanoj populaciji, ovom metodom dobivaju se podaci o značajkama svake pojedine ispitivane stanice. Stanice se izoliraju iz bioloških staničnih suspenzija (krv, koštana srž, likvor) ili čvrstih tkiva te s pomoću sustava osobitih otopina i primijenjenih tlakova prolaze kroz mjernu stanicu u pojedinačnom nizu.

Protočnom citometrijom mjeri se veličina stanice, složenost unutarstanične strukture te prisutnost bioloških biljega izraženih na membrani ili unutar stanice. U hematološkoj i imunološkoj dijagnostici poseban značaj ima razvrstavanje stanica na osnovi prisutnosti tzv. diferencijacijskih antigena (CD, engl. *clusters of differentiation*) koji su karakteristični za staničnu lozu, stadij diferencijacije i aktivacije stanice. Diferencijacijski antigeni određuju se na stanicama vezanjem sa specifičnim monoklonskim protutijelima koja su obilježena različitim fluorokromima čiji signal omogućuje uočavanje vezanih imuno-kompleksa. Kako bi nalaz mjerenja stanica protočnom citometrijom dao odgovor na postavljeno kliničko pitanje, vrlo je važno prilikom uvođenja ove metode dobro poznavati konfiguraciju analizatora na kojem se radi, te ekscitacijski i emisijski spektar fluorokroma koji će se odabrati i koristiti.

Prolaskom kroz mjernu jedinicu protočnog citometra, svaku stanicu obasjava jedna ili više usmjerenih laserskih zraka iz jednog ili više lasera određenih valnih duljina ekscitacije, ovisno o vrsti instrumenta. Pri tome dolazi do rasapa svjetlosti i emisije fluorescencije koje prikuplja optički dio instrumenta. Optički dio protočnog citometra čini sustav ogledala koji usmjeravaju svjetlost na odgovarajuće leće i niz detektora za emitiranu svjetlost. Raspršenje svjetlosti koje se očitava na detektoru u smjeru upadne zrake proporcionalno je veličini stanice, a raspršenje svjetlosti koje se detektira okomito na smjer laserske zraku proporcionalno je složenosti unutarnje strukture stanice. Fluorescentni signali detektiraju se posebnim detektorima, a intenzitet fluorescencije proporcionalan je broju molekula biljega za koji je vezano protutijelo obilježeno fluorokromom. Analiziranjem citograma, tj. kombinacija prikaza mjerenja osobina stanica, s pomoću osobite računalne programske potpore, moguće je razvrstati stanice u različite populacije i procijeniti njihovu raspodjelu u uzorku. Za dobivanje pouzdanog rezultata iznimno je važna pravilna i precizna priprema stanica iz uzorka, najčešće periferne krvi ili koštane srži.

Imunološka fenotipizacija normalnih i zloćudno promijenjenih krvotvornih stanica s pomoću monoklonskih protutijela na specifične CD biljege najvažniju primjenu ima u dijagnostici leukemija i limfoma što je i prvenstveni razlog uvođenja protočne citometrije u Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Rijeka. Za informativnu i pouzdanu dijagnostiku i praćenje hematoloških zloćudnih bolesti koristit će se protokoli, tzv. dijagnostički paneli, koji odabirom specifičnih protutijela u prvom koraku imaju za cilj prepoznavanje i probir staničnih loza, a u drugom detaljnu i specifičnu imunofenotipsku analizu zloćudnih stanica.

Nalaz imunološke fenotipizacije stanica periferne krvi i/ili koštane srži temeljni je nalaz u procesu dijagnostike, liječenja i praćenja hematoloških zloćudnih bolesti.

Ključne riječi: protočna citometrija, leukocitni diferencijacijski antigeni, fluorescencija, imunološka fenotipizacija

# UČESTALOST POGREŠAKA U PRIJEPISU UPUTNICA U LABORATORIJSKI INFORMACIJSKI SUSTAV

Edin Halilović[1], Ivana Ćelap[1], Tomislav Pavičić[1], Nada Vrkić[1]

[1] KBC Sestre milosrdnice, Zavod za kliničku kemiju, Zagreb, Hrvatska

UVOD: Predanalitička faza laboratorijskog rada izvor je najvećeg broja pogrešaka u cjelokupnom laboratorijskom procesu. U novije vrijeme se veliki napori ulažu u standardizaciju tog dijela laboratorijskog rada jer su pogreške najvećim dijelom uzrokovane ljudskim faktorom. Između ostalog, u pogreške s najlošijim ishodom za bolesnika svrstavaju se pogreške u identifikaciji bolesnika te pogreške pri prijepisu pretraga traženih na uputnici. U ambulanti Kliničkog zavoda za kemiju (KZZK) uputnice se prepisuju u laboratorijski informacijski sustav (LIS) što predstavlja dodatni mogući izvor pogrešaka i pritužbi bolesnika.
CILJ: Ispitati učestalost pogrešaka pri prijepisu podataka o bolesniku i pretraga traženih na uputnici za ambulantne bolesnike.
MATERIJALI I METODE: Na kraju svakog radnog dana u razdoblju od 25. ožujka do 8. travnja 2016. napravljena je kontrola svih zaprimljenih uputnica na način da su se podaci s uputnice uspore ivali s podacima zabilježenima u LIS-u. Kontrolu uputnica napravio je djelatnik koji u tom razdoblju nije bio raspoređen na radno mjesto u ambulanti KZZK. Kontrolirani podaci s uputnice bili su: identifikacijske pogreške (ime, datum rođenja, spol), dijagnoza, jesu li zadane sve pretrage s uputnice, jesu li sve tražene pretrage ispravno interpretirane od strane djelatnika, jesu li zadane pretrage kojih nema na uputnici. U ispitivanom razdoblju na radnom mjestu u ambulanti KZZK bilo je raspoređeno sedam djelatnika te se bilježio i ukupan broj pogreška svakog djelatnika po danu. Za izračun učestalosti pogrešaka korišten je program Microsoft Excel 2007.
REZULTATI: Od upisanih 1269 ambulantnih uputnica najveći broj pogrešaka (36) odnosio se na pogreške u prijepisu dijagnoze (2,84 %) dok je 15 pogrešaka bilo u vezano za krivi spol (1,18 %). Ukupno 11 pogrešaka (0,86 %) bilo je vezano za identifikacijske podatke (ime, datum rođenja). Sa 25 (1,97 %) uputnica nisu prepisane sve tražene pretrage, a na 28 (2,21 %) uputnica je djelatnik nadodao pretrage koje nisu tražene. S 4 uputnice su djelatnici krivo interpretirali traženu pretragu (0,32 %). U ispitivanom razdoblju učinjeno je ukupno 118 pogrešaka (9,29 %) uz statistički značajnu razliku u broju pogrešaka između djelatnika ($P < 0,001$).
ZAKLJUČAK: Rezultati pokazuju nisku učestalost pogrešaka pri prijepisu podataka o bolesniku koji mogu rezultirati potencijalno negativnim ishodom za bolesnika. Dodatno smanjenje učestalosti ove vrste pogreške moglo bi se očekivati jedino uvođenjem informatizacije u obliku prijema e-uputnica u LIS čime bi se minimalizirao broj mogućih pogrešaka uzrokovan ljudskim faktorom i ostvarila bolja standardizacija predanalitičke faze laboratorijskog rutinskog rada, a time i povoljniji ishodi i zadovoljnije bolesnike.

*Ključne riječi:* pogreška, LIS, uputnica

# UČINKOVITOST LABORATORIJSKIH TESTOVA NEONATALNE SEPSE

A. Barać[1], I. Gašpar[1], A. Jurić[1], M. Lovrić[1]

[1] Sveučilišni odjel zdravstvenih studija Sveučilišta u Splitu; Medicinsko laboratorijska dijagnostika; Split, Hrvatska

Neonatalna sepsa je klinički sindrom multisistemskog oboljenja praćenog bakterijemijom sa visokom smrtnošću. Različito se definira na temelju brojnih kliničkih i laboratorijskih kriterija, a upravo je definicija neonatalne sepse ključna za tumačenje laboratorijskih rezultata kako bi se mogla postaviti što ranija dijagnoza te početak odgovarajućeg liječenja. Čak ni u MKB-10 ne postoji točna klasifikacija ovog sindroma. Ni liječenje, niti neurorazvojni ishodi u preživjelih neonatusa nisu se značajno promijenili tijekom posljednjih trideset godina.
Glavni problem je što ne postoji specifična laboratorijska pretraga koja bi sa sigurnošću potvrdila kako se radi upravo o sepsi kod neonatusa, a razlog za otežan razvoj takve dijagnostike jest raznolikost patogena koji uzrokuju infekciju. Kako ne postoji jedinstveni biljeg za sepsu, cilj našeg istraživanja je bio pronaći najbolje metode koje bi s velikom sigurnošću ukazale na opasnost od moguće infekcije ili već manifestnu bolest.
U istraživanju smo se koristili dostupnom literaturom pregledavajući više desetaka različitih znanstvenih radova preko baze podataka Medline uz pomoć pretraživača PubMed.
Rad smo podijelili u dva dijela. Prvi dio opisuje standardne laboratorijske testove, dok se u drugome dijelu opisuju biokemijski markeri čija koncentracija u krvi može pomoći pri dijagnozi ovog sindroma. Budući da zbog neodgovarajuće farmakoterapije postoji velika opasnost od pojave mikroorganizama otpornih na antibiotike, javlja se potreba korištenja laboratorijskih testova sa značajnom dijagnostičkom vrijednošću. Stoga se dijagnoza neonatalne sepse počinje temeljiti na kliničkoj procjeni u kombinaciji sa laboratorijskim biomarkerima. Standardni laboratorijski postupci za dijagnostiku neonatalne sepse uključuju hemokulturu, PCR, bijelu krvnu sliku te po potrebi lumbalnu punkciju. Najznačajniji dijagnostički biomarkeri su prokalcitonin, C-reaktivni protein (CRP) i citokini (IL-1, IL-6, TNF-α).
Zaključujemo kako ne postoji niti jedna pretraga koja bi mogla samostalno služiti za detekciju i dijagnosticiranje sepse. Uspješna dijagnoza kombinacija je više pretraga koje se različito kombiniraju u različitim zdravstvenim sustavima usporedno incidenciji različitih patogena. Bitno je i dalje nastaviti tragati za savršenim biomarkerom koji bi trebao biti praktičan i visoko specifičan kako bi se prijevremenonotkrili pacijenti koji su pod velikim rizikom od zaraze i kako bi se mogla postaviti odgovarajuća preventivna terapija i liječenje.

Ključne riječi: neonatalna sepsa, patogeni, biomarkeri, laboratorijski testovi

# ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE VALPROIČNE KISELINE – PRIKAZ SLUČAJA

I. Volar, M. Lijović, R. Kos

KBC Zagreb, Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Zagreb, Hrvatska

Uvod
Valproična kiselina je antiepileptik širokog antikonvulzivnog djelovanja. Iako spada u grupu starijih antiepileptika vrlo je efikasan u prevenciji i liječenju generaliziranih oblika epilepsije.

Cilj rada
Prikazati slučaj djeteta s toksičnim koncentracijama valproične kiseline u serumu.

Metoda
U laboratoriju za određivanje koncentracije valproične kiseline u uzorku koristi se turbidimetrijska imunokemijska metoda PETINIA (Particle Enhanced Turbidimetric Inhibition Immunoassay).

Rezultati
Dječak starosne dobi od 3,5 godine je zbog akutnog poremećaja svijesti nejasne etiologije zaprimljen u Hitnu službu. Nakon učinjenog probira GC-MS metodom u urinu i sumnje na prisutnost valproične kiseline istoj je određena koncentracija u serumu.
Koncentracija valproične kiseline u serumu pri dolasku je bila 6620 µmol/L (terapijski raspon 350 – 690 µmol/L). Vrijednost amonijaka u serumu je varirala od 30 do 70 µmol/L (referentni raspon 24,0-48,0 µmol/L). Koncentracija valproične kiseline je nakon hemodijalize postepeno padala i nakon 4 dana je bila ispod granice detekcije (< 20,7 µmol/L).

Zaključak
Kod lijekova uske terapijske širine potrebno je praćenje koncentracije (engl. *therapeutic drug monitoring*) kako bi se izbjegle koncentracije koje mogu dovesti do toksičnosti, te kako bi se, u slučaju trovanja, mogla pratiti efikasnost primijenjenog postupka detoksikacije.

Ključne riječi: Valproična kiselina, PETINIA

# ISTRAŽIVANJE MIKROBIOLOŠKE FLORE PODVEZA KOJE SE KORISTE PRI UZORKOVANJU VENSKE KRVI

M.Čuljak[1], AM.Šimundić[1], A.Gverić[2]

[1]KBC Sestre milosrdnice, Zavod za kliničku kemiju, Zagreb, Hrvatska
[2]KBC Sestre milosrdnice, Zavod za mikrobiologiju, parazitologiju i bolničke infekcije, Zagreb, Hrvatska

UVOD: Podveze koje se višekratno koriste pri uzorkovanju venske krvi, potencijalni su izvor bolničkih infekcija. Prijenos kontaktom uključuje dodir s neživom površinom koja je kontaminirana mikroorganizmima.
CILJ ISTRAŽIVANJA: Cilj ovog istraživanja je istražiti prisutnost mikroorganizama na podvezama, ispitati njihovu antimikrobnu osjetljivost i utvrditi higijenske navike zdravstvenog osoblja koje ih koristi.
MATERIJALI I METODE: Obrađene su 52 podveze korištenjem dakronskog brisa prethodno namočenog u sterilnu fiziološku otopinu. Obrisana je cijela površina podveze uključujući kopču.
Obrisak je inokuliran na čvrstu podlogu 5%-krvni agar i tekuću podlogu triptozni bujon za obogaćivanje, koji je nakon 24-satne inkubacije subkultiviran na 5%-krvni agar. Izolirane bakterijske kolonije su identificirane standardnim fenotipskim metodama, a testiranje antimikrobne osjetljivosti učinjeno je po Kirby-Bauer disk difuzijskoj metodi. Rezultati su interpretirani po EUCAST standardima.
Fenotipskim metodama određivana je prisutnost meticilin-rezistentnog *Staphylococcus aureusa* (MRSA), vankomicin-rezistentnog *Enterococcus* sp. i višestruko otpornih Gram negativnih vrsta (ESBL i karbapenemazaproducirajuće enterobakterije, *Pseudomonas aeuriginosa* i *Acinetobacter baumannii*).
Istovremeno uz uzimanje obrisaka poveski, provedena je anonimna anketa o načinu i učestalosti dezinfekcije podveza i pravilnoj higijeni ruku prilikom venepunkcije.
Anketu su ispunili medicinske sestre/tehničari koji su u trenutku uzorkovanja podveza bili prisutni na radilištima.
REZULTATI: Ukupan rezultat bakterijskih kolonizacija: sterilno je bilo 6% (4/52) izolata, izolata fiziološke flore kože (koagulaza negativni stafilokoki, *Bacillus* sp., *Corynebacterium* sp.) 85% (47/52), potencijalno patogenih divljih izolata (*Enterobacter* sp., *Enterococcus* sp.) 4% (2/52), *Staph.aureus* 2% (1/52), multiplo rezistentnih sojeva MRSA 3% (2/52). Prosječna starost podveza je 165 dana, a prosječan broj korištenja 10 puta dnevno. Na pitanje da li se podveza pere 14% ispitanih zdravstvenih radnika odgovorilo je nikada, 17% uvijek, 69% ponekad. Na pitanje da li se podveza dezinficira 27% zdravstvenih radnika odgovorilo je nikada, 27% uvijek, 46% ponekad. 69% zdravstvenih radnika odgovorilo je da uzorkovanje krvi uvijek vrši u novim rukavicama, 27% ponekad, 4% nikada. Prije uzorkovanja krvi higijenu ruku učini 81% zdravstveni radnik, 19% ponekad, 0% nikada. Od ukupnog broja ispitanih podveza 45 (87%) je zajedničkih, dok je 7 (13%) osobnih.
ZAKLJUČAK: Višekratne podveze koje se koriste za uzorkovanje venske krvi predstavljaju izvor bolničkih infekcija uključujući i multiplorezistentne sojeve. Svi zdravstveni radnici ne pridržavaju se smjernica o provođenju osobne higijene i ne primjenjuju higijenske postupkepri uzorkovanju krvi. Uvođenje jednokratnih podveza trebalo bi postati jedna od smjernica za sprečavanje bolničkih infekcija.

*Ključne riječi*: podveza, uzorkovanje venske krvi, zdravstveni radnik, bolnička infekcija

# D-DIMER U SUVREMENOJ DIJAGNOSTICI KARDIOVASKULARNIH BOLESTI

S. Canko[1], A. Ružić[2]

[1]Opća bolnica „Dr. Ivo Pedišić“ Sisak, Sisak, Hrvatska; [2]KBC Rijeka i Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka, Hrvatska

Uvod: Stopa morbiditeta i mortaliteta od kardiovaskularnih i trombotskih bolesti u stalnom je porastu. Na unaprjeđenje liječenja, smanjenje stope i poboljšanje kakvoće života oboljelih presudnu ulogu ima primarna i sekundarna prevencija, rana dijagnostika i pravovremena primjena antikoagulantne terapije.
Cilj studije: Utvrditi ulogu, racionalnu primjenu i interpretaciju vrijednosti D-dimera kao iznimno vrijednog markera tromboembolijskih bolesti, ali i stanja s gubitkom kontinuiteta endotela velikih krvnih žila te krvarenja u tkiva.
Metode: Sustavni pregled dostupne literature, izvornih i preglednih članaka objavljenih u znanstvenim bazama podataka.
Rezultati: Nalaz D-dimera granične vrijednosti 5,0 μg/mL uz osjetljivost testa 68,4% i specifičnost 90,3% predstavlja parametar za razlikovanje akutne disekcije aorte i plućne embolije (povišene vrijednosti) od infarkta miokarda (niske vrijednosti). Kod plućne embolije niskog stupnja vjerojatnosti vrijednosti D-dimera ≤ 500 μg/L kontraindiciraju daljnji dijagnostički postupak. Kod 56% bolesnika s niskim stupnjem vjerojatnosti duboke venske tromboze gornjih ekstremiteta uz abnormalan nalaz D-dimera, ultrazvukom je duboka venska tromboza potvr ena u 10,71%, a superficijalna u 22,32% slučajeva. Osjetljivost ultrazvučne dijagnostike više organa pokazala je veću osjetljivost (90%) i nižu specifičnost (86%) u odnosu na osjetljivost i specifičnost ultrazvučne dijagnostike pojedinačnih organa. Dokazana je osjetljivost testa 67,9% i specifičnost 68,6% za graničnu vrijednost D-dimera 1910 μg/mL kao prediktora posttrombotskog sindroma, česte posljedice venske tromboze. Kod povišenih vrijednosti D-dimera u 54,8% bolesnika nakon inzulta, venska je tromboza potvrđena u 76,5%, u 50% bolesnika s teškim oštećenjem mozga tromboza je potvrđena u 68,7% te u 61,6% ortopedskih bolesnika tromboza je potvrđena u 29,7% uključujući 1 slučaj tromboze bez povišenog D-dimera.
Zaključak: Određivanje D-dimera jednostavna je, brza i neinvazivna metoda. D-dimer je ključni marker kod niske vjerojatnosti plućne embolije jer normalne vrijednosti isključuju dijagnozu čime smanjuju nepotrebnu izloženost rentgenskom zračenju, vremensko trajanje i financijske troškove zdravstvene skrbi dok povišene vrijednosti indiciraju daljnji dijagnostički postupak. Brz je test probira za akutnu disekciju aorte i plućnu emboliju te njihovo razlikovanje od akutnog infarkta miokarda. Kod bolesnika s preboljelim inzultom ili teškim oštećenjem mozga na terapiji niskomolekularnim heparinom pokazuje visoku osjetljivost i negativnu prediktivnu vrijednost za vensku trombozu i plućnu emboliju, ali ne kod ortopedskih bolesnika i drugih osoba s očitom ekstravazacijom krvi (postoperativni i traumatizirani bolesnici). Idealan je test za kontrolu i otkrivanje eventualnih recidiva venske tromboze.

Ključne riječi: D-dimer, plućna embolija, infarkt miokarda, disekcija aorte

# CLINICAL LABORATORY OF THE GENERAL HOSPITAL PULA EXPERIENCES WITH COLLECTION OF SPECIMENS FOR LABORATORY TESTING

Tamara Vukosavljević[1], Lorena Honović[1]

[1]General Hospital of Pula, Department of Clinical Laboratory, Pula, Croatia

Introduction: Changes to laboratory requisitions and collection of specimens at the Clinical laboratory of the General Hospital Pula have been in place for few years now. In addition to the phlebotomy service provided within the laboratory, collections of specimens for tests falling under the primary health care are carried out at the general practitioners' offices all around the town of Pula and the hinterland. These changes were introduced to limit inconveniences to patients, crowds in the laboratory's waiting room, as well as extensive paperwork by switching to e-requisitions.
Aim of the study: We wanted to monitor the adherence to collection of specimens in outpatient locations with an aim to establish the general acceptance of the system that has been in place since 2008, initially for a limited period of time, as well as the relative number of inadequate samples.
Materials and Methods: For a period of three months in 2016, we recorded the number of patients who underwent collection of specimens for primary health care tests within the clinical laboratory, and those who preferred a morning scheduled collection at their general practitioners' (GP) offices. Also, we recorded data regarding rejected or missing samples.
Results: An average of 23.7% patients monthly had their samples collected at the participating GP's offices (N=45), whereas 76.3% patients preferred the laboratory. The results showed there are differences in patients' adherence to collection of specimens at GP's offices, therefore five distinct groups emerge: 0-20 patients (group 1, N=8), 20-40 patients (group 2, N=18), 40-60 patients (group 3, N=11), 60-80 patients (group 4, N=6), and >80 patients (group 5, N=2). With regard to inadequate samples, the relative number of missing, not necessary, or rejected samples in the outpatient locations were 5.1% (N=220 out of 4318 total), and 2.8% (N=391 out of 13915total) in the laboratory, respectively.
Conclusion: We observed there is less patients who had specimens collected at their GP's offices than in the laboratory. In addition, GP's offices had more inadequate samples than the laboratory, which is an clear indication there is a need for additional education of personnel at primary health care.

Key words: collection, specimens, laboratory, outpatient

# KVANTIFERONSKI TEST U DIJAGNOSTICI LATENTNE TUBERKULOZE

Pešut A [1],Markanović M[1] , Anđelić M[1]

[1]Klinički bolnički centar Zagreb, Zagreb,Hrvatska, Klinički zavod za kliničku i molekularnu mikrobiologiju

**Uvod**

Procjenjuje se da je 1/3 stanovnovništva inficirano s *M.tuberculosis*, većina kao latentna tuberkulozna infekcija (LTBI). Stanje koje nastaje nakon infekcije *M.tuberculosis*, u kojem bacil miruje, ne dijeli se i ne izaziva reakciju okolnog tkiva, te u kojem inficirani nema znakova bolesti niti je zarazan za okolinu definira se kao LTBI. Većina slučajeva novootkrivene TBC u razvijenim zemljama s niskom incidencijom bolesti, posljedica je aktivacije LTBI.

**Cilj i rezultati**

Nova otkrića na području imunologije tuberkuloze pridonijela su razvoju i primjeni novih dijagnostičkih testova u dijagnostici latentne tuberkuloze. Specifični antigeni koji se koriste u tim testovima ESAT-6 i CFP-10 nisu prisutni ni u jednom BCG-soju, ni u većini netuberkuloznih mikobakterija. Stoga je mogućnost pojave lažno pozitivnih rezultata testa svedena na najmanju mjeru budući da limfociti T u zdravih BCG-iranih osoba, neinficiranih osoba i onih inficiranih s većinom netuberkuloznih mikobakterija ne luče IFN-γ nakon stimulacije smjesom antigena ESAT-6 i CFP-10.

**Metoda**

Quantiferon TB Gold Plus je in vitro dijagnostički test koji pomoću koktela peptida koji stimuliraju proteine ESAT-6 i CFP-10 stimulira stanice u heparinizirano punoj krvi. Otkrivanje interferona-γ (IFN-γ) enzimski vezanim imunosorbent testom (ELISA) upotrebljava se za mjerenje in vitro reakcija na te peptidne antigene koji su povezani s infekcijom.

**Zaključak**

Nove dijagnostičke metode preciznije dijagnostcirajući LTBI suzuju potrebu provođenja preventivne terapije i doprinose uvođenju dijagnostičkih kriterija za njezinu primjenu.

**Ključne riječi**: LTBI latentna tuberkulozna infekcija, KVANTIFERON (Quantiferon TB Gold Plus), ELISA- enzimski vezanim imunosorbent testom

# PRIMJENA TEKUĆE PODLOGE U DIJAGNOSTICI NETUBERKULOZNIH MIKOBAKTERIJA U MIKROBIOLOŠKOM LABORATORIJU ZAVODA ZA JAVNO ZDRAVSTVO MEĐIMURSKE ŽUPANIJE

D. Furdi[1], M. Payerl-Pal[1], B. Tićac[2]

[1]Zavod za javno zdravstvo Međimurske županije, Čakovec, Hrvatska

[2]Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet, Rijeka, Hrvatska

Uvod: Danas se za kultivaciju mikobakterija u tekućem mediju široko koristi komercijalna BBL MGIT podloga (engl. *Mycobacteria growth indicator tube, Becton Dickinson, SAD*). S pojavom tzv. „modernih“ bolesti povezanih s HIV infekcijama i imunodeficijencijom, u današnje vrijeme bilježimo sve učestaliju izolaciju netuberkuloznih mikobakterija (NTM) u laboratorijima koji se bave njihovom dijagnostikom.
Cilj: Cilj ovog rada bio je odrediti dijagnostičku vrijednost tekuće MGIT podloge u izolaciji NTM tijekom desetogodišnjeg razdoblja u Mikrobiološkom laboratoriju Zavoda za javno zdravstvo Međimurske županije, zatim odrediti udio i vrste izoliranih sojeva NTM u kliničkim uzorcima nasađenima na tekuću MGIT podlogu, prikazati udio izolata NTM izoliranih iz kliničkih uzoraka nasađenih na tekuću MGIT podlogu u odnosu na izolate istih uzoraka nasađenih na krutu podlogu te odrediti osjetljivost i specifičnost tekuće MGIT podloge u detektiranju NTM u kliničkim uzorcima.
Materijal i metode: Korišteni su podaci iz arhive Mikrobiološkog laboratorija ZZJZ Međimurske županije. Učinjena je retrospektivna analiza rezultata kultivacije mikobakterija na tekućoj podlozi BBL MGIT te krutim podlogama po Loewenstein-Jensenu i Stonebrinku, u vremenskom razdoblju od 2005. – 2014. godine.
Rezultati: U radu su analizirani i deskriptivno opisani rezultati kultivacije NTM iz kliničkih uzoraka koji su za nacjepljivanje na hranjive podloge prethodno pripremljeni digestijom i dekontaminacijom pomoću komercijalnih *BBL MycoPrep* kompleta, te nasađeni na komercijalnu tekuću i/ili klasičnu krutu podlogu. Unatoč evidentnom padu broja obrađenih kliničkih uzoraka, u desetogodišnjem razdoblju je zabilježen blagi porast izolacija NTM. Uzgojem na krutim i tekućim podlogama nisu uočene različitosti s obzirom na izoliranu vrstu mikobakterija. Specifičnost kultivacije na krutim i tekućim MGIT podlogama se ne razlikuje i iznosi 100 %, ali je značajna razlika u osjetljivosti, koja je približno 3 puta veća u slučaju korištenja tekuće podloge. Najviše izolata NTM uzgojeno je iz uzoraka urina, a najčešća identificirana vrsta je *M. xenopi*.Zaključak: Za kultivaciju mikobakterija, prema preporučenim standardima, potrebno je istovremeno koristiti tekuću i krutu podlogu jer se tada mogu očekivati najbolji dijagnostički rezultati. Rezultati analize pokazali su da tekuća podloga ne može biti zamjena za čvrstu podlogu već samo dodatak postojećoj dijagnostici, ali ona pozitivno utječe na osjetljivost postupka kultivacije naročito pri izolaciji netuberkuloznih mikobakterija.

Ključne riječi: netuberkulozne mikobakterije (NTM), Zavod za javno zdravstvo Međimurske županije, MGIT.

# MALDI-TOF MASENA SPEKTROMETRIJA, IDENTIFIKACIJA MIKROORGANIZAMA U RUTINSKOM RADU LABORATORIJA

Markanović M[1], Pešut A[1], Anđelić M[1]

[1] Klinički bolnički centar Zagreb, Klinički zavod za kliničku i molekularnu mikrobiologiju, Zagreb, Hrvatska

MALDI TOF (engl. *Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight*) je metoda koja se koristi za identifikaciju mikroorganizama izoliranih u kliničkom mikrobiološkom laboratoriju, analizirajući spektar proteina pomoću masene spektrometrije. Maseni spektar uzoraka uspoređuje se s referentnim uzorcima koji se nalaze u bazi podataka. MALDI-TOF MS metoda se može uspješno primjenjivati za identifikaciju mikroorganizama (bakterije, gljive i netuberkulozne mikobakterije) u rutinskom radu laboratorija. Za identifikaciju mikroorganizama do sada su se koristile metode koje zahtijevaju dužu inkubaciju te otežavaju i produljuju vrijeme potrebno za postavljanje dijagnoze i adekvatno liječenje bolesnika. MALDI-TOF MS je brza i jednostavna metoda kojom se skraćuje vrijeme od prijema uzoraka do identifikacije mikroorganizama.
Analize koje se zasnivaju na spektrometriji masa visoko su selektivne i osjetljive, te je zbog velike osjetljivosti moguće analizirati male količine proteina, što omogućava analizu izrazito malih volumena uzorka. Uvođenje MALDI-TOF MS metoda u rutinskoj praksi te usporedba s tradicionalnim sistemima za identifikaciju pridonosi uspješnosti cjelokupnog dijagnostičkog postupka. MALDI -TOF se može uspješno primjenjivati za identifikaciju mikroorganizama u rutinskom radu laboratorija kao točna, brza, jeftina i jednostavna metoda.

Ključne riječi: MALDI-TOF, masena spektrometrija, matrix, identifikacija

# COMPOSITION OF INTESTINAL MICROBIOTA IN INFANTS

N. Sučić[1], V. Rožmanić[2] B. Tićac[1,3]

[1]Teaching Institute of public health Primorsko-goranska County, Rijeka, Croatia

[2]University of Rijeka, Faculty of Health Studies, Rijeka, Croatia

[3]University of Rijeka, Faculty of Medicine, Rijeka, Croatia

The effect of microbiota on the life and health of the host is very complex, and the gut microbiota, as the largest, has a major role and influence on many metabolic and immune processes in the body. Investigations of composition of intestinal microbiota and its role in maintaining the health of an organism is still in developing phase like development of microbiological and molecular techniques with whom are achieved better results in the detection of certain bacterial species that consist intestinal microbiota.
The aim of this study was to establish cultivation and RT-qPCR method for the detection of the composition of the intestinal microbiota. With this establishment it was set the basis of this study. In the initial examination of the composition of intestinal microbiota in infants in the age of one month where collected stool samples during the first systematic examination of selected Specialist pediatricians in Primorsko-goranska County, in the period from 01.01.2015. to 31.03.2016. Results of the analysis showed that order of the RT-q PCR kit with the adapted composition of the primers is needed for better results in the examination of the composition of the intestinal microbiota.

**Keywords**: microbiota, intestine, newborn, cultivation, RT-qPCR

# TESTIRANJE OSJETLJIVOSTI *S.PNEUMONIAE* PREMA EUCAST SMJERNICAMA

S. Kuštreba[1], D. Erceg[1], A. Tambić Andrašević[1]

[1]Klinika za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević", Zagreb, Hrvatska

UVOD:
EUCAST (*The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) se bavi određivanjem graničnih vrijednosti za antibiotike i tehničkim aspektima fenotipskog in vitro testiranja antimikrobne osjetljivosti. Većina antimikrobnih minimalnih inhibitorskih koncentracija (MIK) u Europi je harmonizirana s EUCAST smjernicama, a kalibrirana je i metoda disk difuzije za ispitivanje osjetljivosti.
CILJ STUDIJE:
Opis izvođenje i interpretacije testova osjetljivosti za *S.pneumoniae* prema EUCAST smjernicama.
METODE:
Disk difuzija, minimalne inhibitorske koncentracije, MIK test trakice
ZAKLJUČAK:
Testiranje i interpretacija osjetljivosti na antibiotike treba provesti prema ažuriranim interancionalnim standardima. EUCAST standardi pružaju klinički orijentiranu interpretaciju nalaza osjetljivosti na antibiotike, što omogućuje maksimalnu iskoristivost antibiotika u eri sve više prisutnih multiplorezistentnih bakterija.

Ključne riječi: S. pneumoniae, EUCAST, disk difuzija, minimalne inhibitorske koncentracije

# INFORMATIZACIJA PATOHISTOLOŠKOG LABORATORIJA - VANTAGE WORKFLOW SOLUTION

A.Vuko[1], M. Jurjević[1], D. Tomičić[1]

[1]KBC Firule, Zavod za patologiju, citologiju i sudsku medicinu, Split, Hrvatska

## UVOD

Veliki izazov u standardizaciji patohistološkog laboratorija predstavlja informatizacija laboratorijskog procesa. Ona podrazumijeva implementaciju specifičnog informatičkog programa kao što je Vantage Workflow (*Ventana Medical Systems, Roche*) kroz sve korake laboratorijskog ciklusa, počevši od prijema uzorka, preuzimanja, izrade parafinskog bloka, rezanja, analitičkih metoda i arhiviranja patohistoloških preparata. Preduvjet za uvođenje tzv. Workflow-a je postojanje internog laboratorijskog ili bolničkog informacijskog sustava, automatizirana analitika, printer histoloških kazetica te Vantage oprema (ekrani, printeri, skeneri bar kodova, računala). Rad u Vantage sustavu zahtjeva logiranje korisnika, bar kodiranje i skeniranje uputnica, histoloških kazetica i stakalaca.

## CILJ STUDIJE

Ukazati na značaj uvođenja informatizacije kroz sve segmente laboratorijskog procesa u patohistološkoj dijagnostici kako bismo osigurali kontroliranu sljedivost i obradu uzoraka pacijenata.

## METODE

Dvogodišnjeg iskustvo u korištenju Vantage Workflow-a u kliničkom patohistološkom laboratoriju KBC-a Split. Prezentacija laboratorijskog procesa kroz rad uVantage Workflow-u slikovitim prikazom patohistoloških slučajeva.

## REZULTATI

Iskustvenom usporedbom rada u patohistološkom laboratoriju koristeći Workflow i bez istoga, uočljiva je razlika u obavljanju i kvaliteti laboratorijskih procesa u korist rada s Workflow-om.

## ZAKLJUČAK

Informatizacija patohistološkog laboratorija postaje nedjeljiv segment u standardizaciji istog. Vantage Workflow nam donosi: sljedivost laboratorijskih procesa u realnom vremenu i retrogradno, standardizaciju laboratorijskih procesa, uvođenje sustava kontrole kvalitete, praćenje opterećenja radnih procesa, praćenje efikasnosti radnih procesa, reduciranje mogućih grešaka, te informatizaciju arhiviranja patohistoloških preparata.

KLJUČNE RIJEČI: Patohistologija, informatizacija, Workflow

# IMUNOHISTOKEMIJSKO DOKAZIVANJE ALK – FUZIJSKOG PROTEINA U TUMORIMA PLUĆA

Katarina Ražnjević, Ozrenka Poljak

Klinički zavod za patologiju i citologiju, Klinički bolnički centar Zagreb, ZAGREB, HRVATSKA

Rak pluća jedna je od najčešćih zloćudnih bolesti i ujedno i vodeći uzrok smrti me u svim karcinomima u žena i muškaraca. Današnja klasifikacija karcinoma pluća osim na histološkoj slici temelji se na genetskim promjenama i zahtijeva molekularnu analizu bioptičkih uzoraka. Oko 50% svih karcioma pluća odnosi se na adenokarcinom, a samo kod 7% oboljelih nalazimo ALK mutacije imunohistokemijskom metodom.

U karcinomima s ALK translokacijom najčešće je riječ o fuziji EML4 i ALK gena što dovodi do stvaranja abnormalnog fuzijskog proteina koji pospješuje nastanak i napredovanje karcinoma.

Testiranje se radi na uzorku tkiva dobivenog biopsijom ili citološkom aspiracijom, a translokacija se može dokazati metodama FISH, PCR ili imunohistokemijskom analizom. Imunohistokemijska metoda testiranja u našem laboratoriju se radi u Bench Mark Ultra aparatu. Specifično protutijelo ALK (D5F3) usmjereno je na abnormalni fuzijski protein. U koliko je isti prisutan, dobiva se pozitivna imunohistokemijska reakcija u citoplazmi tumorskih stanica.

U našem laboratoriju testiraju se svi adenokarcinomi na ALK protein. S obzirom da petogodišnje preživljenje iznosi samo 6% bitno je testiranje na vrijeme, jer se kod ALK translokacije primjenjuje ciljana terapija ALK - inhibitorima koja pridonosi duljem preživljenju.

Ključne riječi: imunohistokemija, alk, adenokarcinom

# ZNAČAJ PATOHISTOLOŠKE PRETRAGE U SUDSKO-MEDICINSKOJ PRAKSI

Importance of histopathology in forensic pracice

S. Arbanas[1], V. Stemberga[1], D. Cuculić[1], I. Šoša[1]

Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Zavod za sudsku medicinu i kriminalistiku, Rijeka, Hrvatska

Cilj: ukazati na važnost patohistološke pretrage (PHP) pri utvrđivanju uzroka smrti i istaknuti ulogu ove pretrage u sudsko-medicinskoj praksi te naglasiti prednosti rutinskog histokemijskog bojenja Hemalaun-Eozin (HE) tehnikom.
Metode: retrospektivna studija obdukcija izvršenih na Zavodu za sudsku medicinu i kriminalistiku Medicinskog fakulteta u Rijeci, u periodu od 2000. do 2015.godine. Izdvojeni su slučajevi u kojima je PHP bila presudna u zaključivanju o uzroku smrti.
Rezultati: u istraživanom periodu patohistološka pretraga je vršena kod 63 % obduciranih, pri čemu je imala presudni utjecaj na zaključak o uzroku smrti u 109 slučajeva, odnosno 9,1% (±SD= 3,1) uzroka smrti godišnje. Od tih 109 slučajeva, u kojima je PHP bila presudna da se utvrdi stvarni uzrok smrti većina smrti su prirodnog uzroka a manji je udio nasilnih smrti.
Rasprava: u usporedbi s rezultatima drugih autora, mi smo, dobili nešto veći broj smrti kojima je uzrok potvrđen ili utvrđen tek PHP. Važnost promoviranja neizostavnosti PH pretrage nije samo u reduciranju broja slučajeva kod kojih se, bez PHP, ne može postaviti nedvojbeni uzrok smrti, već se očekuje da će u budućim uvjetima virtualne autopsije i obdukcije potpomognute suvremenom radiološkom tehnikom PHP i dalje ostati standardni postupak u sudskoj medicini.
Zaključak: patohistološka pretraga predstavlja važan izvor informacija pri utvrđivanju uzroka smrti. Ujedno predstavlja i materijal koji se može pregledavati duže vrijeme nakon smrti, ima značajnu ulogu u edukaciji zdravstvenog osoblja te predstavlja bazu za znanstvena istraživanja.

*Ključne riječi:* obdukcija, patohistologija, sudska medicina, uzrok smrti.

---

[1]Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Zavod za sudsku medicinu i kriminalistiku, Rijeka, Hrvatska
*Adresa za dopisivanje:
Silvia Arbanas, mag. med. lab. diag., Zavod za sudsku medicinu i kriminalistiku, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci Braće Branchetta 20, 51 000 Rijeka
*Phone: + 385 51 213 853*
*Fax: + 385 51 401 722*
*Mob: +385 91 560 2864*
e-mail : silvia.arbanas@yahoo.com

# MIKROOKOLIŠ U KLASIČNOM HODGKINOVOM LIMFOMU

S. Hančić[1], P. Korać[2], N. Jonjić[3,4], M. Dominis[5]

[1]KB Merkur, Klinički zavod za patologiju i citologiju, Zagreb, Hrvatska; [2]Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Biološki odsjek, Zagreb, Hrvatska; [3]Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Zavod za opću patologiju i patološku anatomiju, Rijeka, Hrvatska; [4]KBC Rijeka, Zavod za patologiju, Rijeka, Hrvatska; [5]Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

Hodgkinov limfom je biološki heterogena skupina limfoidnih tumora morfološki karakterizirana pojavom malog broja tumorskih stanica porijekla B-limfocita u tkivu bogatom stanicama upalnog odgovora. Hodgkinov limfom dijelimo u dvije skupine: nodularnu limfocitnu predominaciju i klasični Hodgkinov limfom koji se dijeli u četiri podvrste: nodularnu sklerozu, Hodgkinov limfom miješanog celulariteta, limfocitnu depleciju i klasični Hodgkinov limfom bogat limfocitima. Klasični Hodgkinov limfom (KHL) je monoklonalna limfoidna neoplazma građena od malobrojnih tumorskih mononuklearnih i multinuklearnih Hodgkinovih stanica, lakunarnih te Reed – Sternberg stanica koje se nalaze u okruženju različitih vrsta netumorskih stanica. Ekspresijom različitih kemokina i citokina tumorske stanice komuniciraju s mikrookolišem i tako postižu potpuni razvoj malignog fenotipa i izbjegavanje imunog odgovora domaćina. Većina bolesnika se uspješno liječi, ali oko 20% bolesnika ima relaps bolesti i nepovoljan ishod. Dosadašnja istraživanja pokazuju da se količina i vrsta stanica u mikrookolišu tumorskih stanica mogu koristiti kao pokazatelji uspješnosti liječenja. U ovom istraživanju uzorci tkiva limfnih čvorova 120 bolesnika s dijagnozom KHL-a imunohistokemijski su obojeni antitijelima za detekciju T-regulatornih stanica (FOXP3), citotoksičnih limfocita T i NK stanica (granzim B) te makrofaga (CD68 i CD163). Na svim uzorcima napravljena je i *in situ* hibridizacija za detekciju EBV-a u tumorskim stanicama. Rezultati su pokazali da je prisutnost stanica koje eksprimiraju granzim B u mikrookolišu KHL-a vezana za Hodgkinov limfom miješanog celulariteta te da je biljeg makrofaga CD163 potencijalni biomarker preživljenja KHL-a. Boljim razumijevanjem sastava mikrookoliša tumorskih stanica i njihove veze s razvojem podtipova KHL-a mogli bismo dobiti pouzdane prognostičke biomarkere i otvoriti put ka pronalasku novijih, ciljanih metoda liječenja klasičnog Hodgkinova limfoma.

Ključne riječi: klasični Hodgkinov limfom, mikrookoliš, granzim B, CD163

# ZNAČAJ CITODIJAGNOSTIKE U DIJAGNOSTIČKOM ALGORITMU PRETRAGA NEOPLAZMI UROTELA

S. Canko[1], K. Trutin Ostović[2]

[1]Opća bolnica „Dr. Ivo Pedišić“ Sisak, Sisak, Hrvatska; [2]KB Dubrava i Zdravstveno veleučilište Zagreb, Zagreb, Hrvatska

**Uvod**: Tumori urotela značajan su uzrok morbiditeta i mortaliteta. S obzirom da se u 95 % pacijenata radi o malignim tumorima nužno je pravovremeno postaviti dijagnozu. U rutinskom radu koristi se klasikacija SZO-e, a očekuje se uvođenje nove Pariške klasifikacije citologije urina iz 2015. godine.

**Cilj studije**: Utvrditi značaj i točnost citodijagnostike kao neinvazivne metode u otkrivanju neoplazmi urotela uz određivanje subtipa neoplazme.

**Metode**: Standardnom citološkom tehnikom obrade i standardnim tehnikama bojanja po Papenheim-u i Papanicolaou-u obrađeni su uzorci spontano izmokrenog urina te mikroskopski analizirani.

**Rezultati**: Citološki je analizirano 96 uzoraka spontano izmokrenog urina, uzetog kroz tri dana u 32 pacijenta: 23 muškarca i 9 žena, starosti od 60 do 91 godine, u razdoblju od 01.siječnja 2011. do 15. travnja 2011. godine na Odjelu za kliničku citologiju i citometriju, KB Dubrava, Zagreb. S obzirom na uputnu kliničku dijagnozu maligna citološka dijagnoza je postavljena u 17 pacijenata nakon operacije karcinoma mokraćnog mjehura, prostate ili bubrega i u 11 pacijenata s hematurijom. Citološkom analizom sedimenta urina u 13 pacijenata je postavljena citološka dijagnoza papilarnog karcinoma urotela visokog i u 6 pacijenata niskog stupnja malignosti, u 4 recidiv urotelnog karcinoma, u 2 pacijenta: diskarioza, suspektne stanice i karcinom urotela, te u jednog pacijenta: papilom, miješani karcinom i hipernefrom. Svi citološki nalazi uspoređeni su s histološkim nalazima, osim u dva pacijenta s nalazom diskarioze koji su klinički kontrolirani i nije nađena maligna alteracija. Usporedbom citoloških i patohistoloških dijagnoza utvrđena je podudarnost u potpunosti u 26 (86,67%) pacijenata dok se u 4 pacijenta citološka i histološka dijagnoza nije podudarala samo u subtipu karcinoma.

**Zaključak**: Utvrđena je visoka točnost citološke analize sedimenta urina od 86,67% . Citološka analiza urina je točna u otkrivanju slabo diferenciranih karcinoma urotela dok je za dobro diferencirane papilarne karcinome urotela točnost manja zbog morfološke sličnosti malignih stanica sa stanicama normalnog urotela. Značajna je uloga citodijagnostike u kontroli liječenih bolesnika, praćenju učinaka terapije i otkrivanju recidiva karcinoma. Karcinom in situ je zbog morfološke sličnosti teško citološki razlikovati od karcinoma urotela visokog stupnja kada nije papilaran. Citologija urina omogućuje rano otkrivanje neoplazmi urotela jer se kod urednog nalaza cistoskopije ponekad citološki mogu naći maligne stanice osobito kod neoplazme urotela niskog stupnja malignosti.

**Ključne riječi**: karcinom urotela, recidiv, citodijagnostika

# VAŽNOST VOLUMENA KRVI KOD ODREĐIVANJA PROTROMBINSKOG VREMENA U BOLESNIKA NA TERAPIJI MARTEFARINOM (VARFARINNATRIJ)

A. Zeba[1], V. Barac-Latas[2]

[1]OŽB Požega, Odjel za transfuzijsku medicinu, Požega, Hrvatska; [2]Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Katedra za fiziologiju, imunologiju i patofiziologiju, Rjeka, Hrvatska

Predanalitički postupci uzimanja uzoraka kod određivanja protrombinskog vremena (PV) u bolesnika na antikoagulantnoj terapiji Martefarinom predstavljaju najvažniji izvor pogrešaka. Volumen pune krvi prema antikoagulansu treba biti u omjeru 9:1. Promjena odnosa pune krvi i antikoagulansa uzrokuje promjenu vrijednosti protrombinskog vremena.
Cilj ovog rada je odrediti vrijednosti PV-a u bolesnika na antikoagulantnoj terapiji Martefarinom u uzorcima krvi različitog volumena. Dobivene vrijednosti PV-a usporediti s referentnim vrijednostima PV-a na standardnoj količini antikoagulansa u uzocima te utvrditi minimalni volumen krvi prema standardnoj količini citrata, čije vrijednosti PV-a možemo smatrati pouzdanima.
PV je određivan turbidimetrijskom metodom na analizatoru za hemostazu Sysmex CS-2000i tvrtke Siemens. Princip rada se zasniva na aktivaciji inkubirane plazme s optimalnom količinom tromboplastina i kalcija. Aparat mjeri propuštanje svjetlosti tijekom cijelog postupka zgrušavanja, minimalizira prijeanalitičke pogreške skeniranjem uzoraka s više valnih duljina čime otkriva hemolizu, ikterus i lipemiju te automatski upravlja mjerenja takvih uzoraka. Mjerenje procesa zgrušavanja se odvija na ukupno pet valnih duljina.
U istraživanju je obrađeno 314 uzoraka krvi od 106 bolesnika kod kojih je uključena antikoagulantna terapija Martefarinom. Referentni uzorak je volumena 5 mL. Značajnih promjena u vrijednosti PV-a nema dok se volumen uzoraka ne smanji do 4,3 mL čija je srednja vrijednost PV-a 35.6 % značajno niža od srednje vrijednosti PV-a referentnih uzoraka volumena 5 mL od 38 %. Vrijednosti PV-a u uzorcima smanjenog volumena izražene u postocima prema referentnim uzorcima 5 mL su: uzorci smanjenog volumena od 4,9 ml do 4,3 mL pokazuju promjene od 1,2 % - 2,2 %, promjene u uzorcima volumena od 4,2 mL do 3,2 mL su od 1,6 % do 7,7 %, a promjene u uzorcima volumena manjeg od 3,1 mL su od 10,9 % do 13,5 %.
Veće smanjenje volumena krvi prema standardnoj količini antikoagulansa uzrokuje veća odstupanja vrijednosti PV-a od vrijednosti PV-a referentnih uzoraka 5 mL. Srednja vrijednost PV-a sa smanjenim volumenom od 4,9 – 4,4 mL nema značajnih promjena. Značajnost promjena u vrijednostima PV-a nastupa pri volumenu uzorka od 4,3 mL kad je srednja vrijednost PV-a 35,6 % značajno niža od srednje vrijednosti referentnih uzoraka od 5 mL od 38 %.

Ključne riječi: Martefarin, protrombinsko vrijeme, volumen krvi

# PREVALENCE OF THE ANTIBODIES OF THE NEW HISTO-BLOOD SYSTEM - FORS SYSTEM

Carlos Jesus[1]; Camilla Hesse[2]; Clara Rocha[3,4]; Nádia Osório[1]; Ana Valado[1]; Armando Caseiro[1]; António Gabriel[1]; Lola Svensson[2], Wafa Abu Siba[9], Cristina Pereira[10], Jorge Tomaz[10], Paulo Teixeira[1,11], Fernando Mendes[1,5,6,7, 8]

[1]Biomedical Science Department of ESTeSC– Coimbra Health School, Polytechnic Institute of Coimbra, Coimbra, Portugal; [2]PhD, Biomedical Scientist, Department of Clinical Chemistry and Transfusion Medicine, Sahlgrenska University Hospital, Gothenburg, Sweden; [3]Polytechnic Institute of Coimbra, ESTESC-Coimbra Health School, Department Complementary Sciences, Coimbra, Coimbra, Portugal; [4]Institute for Systems Engineering and Computers at Coimbra, Coimbra, Portugal; [5]Biophysics and Biomathematics Institute, IBILI-Faculty of Medicine, University of Coimbra, Portugal; [6]Polytechnic Institute of Coimbra, ESTESC-Coimbra Health School, Department Biomedical Laboratory Sciences, Coimbra, Portugal; [7]CIMAGO, FMUC- Faculty of Medicine, University of Coimbra, Portugal; [8]CNC.IBILI, Universidade de Coimbra, Portugal, [9]Medical Laboratory Sciences Department – Al-Quds University, Abu Dis, Palestine, [10]Blood Bank Service – Coimbra Hospital and Universitary Center (CHUC), Coimbra, Portugal, [11] Department of Anatomic Pathology, Coimbra Hospital and Universitary Center (CHUC), Coimbra, Portugal.

**INTRODUCTION**: In 1987 three unrelated English families were reported with an alleged subgroup called $A_{pae}$. The $A_{pae}$ positive family members showed a divergent antibody and lectin reaction pattern of erythrocytes. The lectin *Helix Pomatia* had strong reaction, polyclonal antibodies (Ab) anti-A had weak response and monoclonal Ab anti-A had no reaction, suggesting a controversy. Swedish researchers found evidences leading to abolish the subgroup $A_{pae}$ and establishing instead the FORS blood group system (accepted by ISBT 2012 as blood group system 31). It's important to know the prevalence of the Ab to make the right decisions in transfusion medicine. For that reason are needed cells containing the Fs saccharide, such as sheep erythrocytes, to search the Ab.
**AIMS**: Study the anti-Forssman (anti-Fs) antibody frequency.
**METHODS**: Plasma from 126 Swedish blood donors and 206 Palestinian blood donors, in a total of 332 blood donors, was included in the study. Sheep erythrocytes were crossed with blood donor plasma using the tube technique. Plasma from $A_{pae}$ individual was used as negative control and anti-Fs (M1/22.25.8HL cell line supernatant) was used as positive control.
**RESULTS**: In 332 Swedish and Palestinian blood donors, all of them were positive for the presence of anti-Fs Ab.
**CONLUSION**: The sheep erythrocytes are suitable to search the human anti-Fs. In this blood donor population (n=332) we didn't found any individual lacking the anti-Fs. Those results contribute to the data of being a rare blood group. Further studies are needed to understand if this Ab has clinical significance or not.

**Keywords**: Forssman group, subgroup $A_{pae}$ human anti-Forssman, prevalence

# *TIPIZACIJA HLA U* ODREĐIVANJU GENETSKE PODLOŽNOSTI NA GLUTENSKU ENTEROPATIJU

Kopić Kristina[1], Sviličić Danijela[1], Maskalan Marija[1], Žunec Renata[1]

[1]Odjel za tipizaciju tkiva, Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju, KBC Zagreb, Hrvatska

UVOD: Glutenska enteropatija ili celijakija je kronična bolest tankog crijeva uzrokovana glutenom iz žitarica. Karakterizirana je poremećenim imunosnim odgovorom s posljedičnim oštećenjem sluznice tankog crijeva i malapsorpcijom. U dijagnostici celijakije pet je važnih elemenata: klinička sumnja na celijakiju, serološki testovi, patohistološka analiza sluznice tankog crijeva, tipizacija HLA, te pozitivan klinički odgovor na bezglutensku prehranu. Tipizacijom HLA određuju se aleli lokusa HLA-DRB1, -DQA1 i -DQB1 te analizira prisutnost HLA-DQ2 i/ili DQ8 heterodimera. Većina bolesnika (do 98%) nosioci su heterodimera HLA-DQ2 (HLADQ (α1*05:01-β1*02) kodiranog genima HLA-DQA1*05:01 i HLA-DQB1*02 i heterodimera HLA-DQ8 (HLADQ (α1*03:01,β1*03:02) koji mogu biti raspoređeni u cis ili trans-položaju ili dijela heterodimera HLA-DQ2. Isključivanje prisutnosti heterodimera s visokom vjerojatnošću isključuje i dijagnozu glutenske enteropatije.
CILJ STUDIJE: U skupini bolesnika upućenih u Odjel za tipizaciju tkiva KBC Zagreb na tipizaciju HLA u svrhu određivanja genetske podložnosti na glutensku enteropatiju, odrediti učestalost HLA- DRB1, -DQA1 i -DQB1 alela te analizirati prisutnost heterodimera HLA-DQ2 i/ili DQ8.
METODE: Tipizacija HLA- DRB1, -DQA1 i -DQB1 alela izvršena je metodama lančane reakcije polimeraze s alel specifičnim početnicama ili oligonukleotidnim probama (metode PCR-SSP i PCR-SSO) koristeći komercijalne testove za tipizaciju niskog i srednjeg razlučivanja (Olerup i Tepnel Lifecodes).
REZULTATI: Testirana su 143 bolesnika kojima su određeni aleli HLA- DRB1, te 140 bolesnika za alele HLA-DQA1 i -DQB1 lokuse. Analizom učestalosti gena HLA uočeno je 12 različitih gena lokusa HLA-DRB1 od kojih su 3 najčešća bila: DRB1*11 (19,0%), DRB1*03 (16,9%) i DRB1*07 (10,9%). Na lokusu HLA-DQA1 određeno je 13 različitih alela od kojih su 3 najčešća bila: DQA1*01:02 (23,0%), DQA1*05:01 (20,4%) i DQA1*05:05/09 (17,9%). Na lokusu HLA- DQB1 određeno je 7 različitih alela od kojih su najčešći: DQB1*02 (77,0%), DQB1*03 (24,6%), te DQB1*05:01 (21,8%). Testiranje prisutnosti heterodimera DQ2 i DQ8 provedeno je u skupini od 117 bolesnika. Analiza je pokazala prisutnost genotipovi za HLA-DQ2 i/ili DQ8 heterodimere kod 53 (45,3%) bolesnika. HLA-DQ2 heterodimer je pronađen kod 41 (77,4%) bolesnika, HLA- DQ8 heterodimer kod 9 (16,9%) bolesnika dok su kod 3 (5,7%) bolesnika bila prisutna oba heterodimera. Među 64 (54,7%) heterodimer negativnih bolesnika, 29 (45,3%) je imalo barem jedan rizični HLA-DQA1*05:05 ili –DQB1*02 alel.
ZAKLJUČAK: Veliki značaj genetskog testiranja na prisutnost HLA-DQ2 i HLA-DQ8 heterodimera te rizičnih alela je u isključivanju bolesti s obzirom na visoku negativnu prediktivnu vrijednost testa više od 96% te kao takvo ima neosporno mjesto u dijagnostičkom algoritmu kod uspostavljanja adekvatne dijagnoze celijakije.

Ključne riječi: celijakija, heterodimer HLA-DQ2/DQ8, HLA-DQA1, HLA-DQB1

# POLIMORFIZAM GENA HLA DAVATELJA ORGANA U PROGRAMU KADAVERIČNE TRANSPLANTACIJE ORGANA U HRVATSKOJ I EUROTRANSPLANTU

Sanja Salamunović, M. Maskalan, K. Štingl Janković, D. Sviličić, D. Čleković, M. Burek Kamenarić, Z. Grubić, R.Žunec

Odjel za tipizaciju tkiva, Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju, KBC-Zagreb, Hrvatska

UVOD: Republika Hrvatska je 15.08.2007. postala punopravna članica Evropske asocijacije za transplantaciju i razmjenu organa tj. Eurotransplant-a (ET), koja ima svoja unutarnja pravila tipizacije HLA kadaveričnog davatelja organa. Članice ET-a još su: Austrija, Belgija, Luksemburg, Mađarska, Nizozemska, Njemačka i Slovenija. Svi kadaverični davatelji koji se prijavljuju u ET za razmjenu organa trebaju biti minimalno tipizirani za lokuse HLA-A, -B i -DRB1.

CILJ: Istražiti raspodjelu gena HLA-A, -B, -C, -DRB1 i -DQB1 u skupini od 630 (344 muškaraca i 286 žena) kadaveričnih davatelja solidnih organa u Hrvatskoj i usporediti s podacima za ET.

METODE: Svim kadaveričnim donorima je izolirana DNA iz uzorka periferne krvi s EDTA, komercijalnim setom za izolaciju DNA pomoću silikonske mebrane. Geni HLA-A, -B, -C, -DRB1 i –DQB1 određeni su lančanom reakcijom polimeraze i početnicama specifičnima za pojedinu grupu alela HLA (metoda: PCR-SSP niskog razlučivanja). Učestalost gena HLA određena je direktnim brojanjem. Za usporedbu razlika između skupina korištena je 2x2 tablica, a kod vrijednosti koje su bile manje od 5 korišten je Fisher-ov test. Statistički značajnim rezultatom smatran je svaki kojem je vrijednost P bila manja od 0,05.

REZULTATI: Na lokusu HLA-A otkriveno je 16 različitih gena, na lokusu HLA-B-34, na HLA-C-15, HLA-DRB1-13 te na lokusu HLA-DQB1 5 različitih gena. Najčešći geni na lokusu HLA-A bili su: A*02 (31,7%) i A*03 (13,1%), na lokusu HLA-B najveću zastupljenost pokazali su geni: B*35 (13,7%) i B*51 (11,4%), dok su na lokusu HLA-C najveći broj puta uočeni: C*07 (25,7%) i C* 04 (14,2%). Me u genima HLA razreda II, na lokusu HLA-DRB1 najčešće su bili prisutni DRB1*11 (18,3%) i DRB1*13 (11,7%), a lokusu HLA- DQB1 najveći broj puta određen je gen DRB1*03 (33,5%). Usporedba naših rezultata raspodjele s rezultatima za druge zemlje članice ET-a pokazala je povišenu učestalost gena: HLA-B*51, HLA-B*18, HLA-B*35, DRB1*11 i DRB1*16 me u našim ispitancima. Istovremeno smo uočili i smanjenu učestalost gena HLA-B*07 i HLA-B*15 među našim ispitanicima u usporedbi s podacima za ET. Najveća razlika u učestalosti uočena je za gen HLA-DRB1*16 (P=0,002 ). Analiza raspodjele gena HLA i ABO krvnih grupa (O-243, A-240, B-109, i AB-38) otkrila je statistički značajnu razliku (P=0,0007) za gen HLA-DRB1*04 koji bio manje prisutan među kadaverima krvne grupe O u usporedbi s onima krvne grupe A.

ZAKLJUČAK: Rezultati istraživanja pružaju podatke koji su od koristi u postupcima dodjele bubrega u Eurotransplantovom programu razmjene organa.

KLUČNE RIJEČI: geni HLA, kadaver, transplantacija

# USPOREDBA NALAZA KONTROLE KVALITETE KONCENTRATA TROMBOCITA U PLAZMI I ADITIVNIM OTOPINIMA

S.Stanešić, D. Kolar, M. Semijalac , M. Liker, M. Strauss Patko, I. Jukić

Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu, Odjel za krvne pripravke, Zagreb

UVOD: Uporaba aditivne otopine za djelomičnu zamjenu plazme za skladištenje koncentrata trombocita pruža brojne pogodnosti kao što su smanjenje učestalosti alergijskih i febrilnih poslijetransfuzijskih reakcija, smanjuje mogućnost hemolize kao posljedicu davanja ABO nepodudarnih koncentrata trombocita i omogućava prikupljanje dodatnih količina plazme.

CILJ: Usporedba nalaza kontrole kvalitete koncentrata trombocita u plazmi i koncentrata trombocita u dvije aditivne otopine.

METODE: Koncentrati trombocita dobiveni su „pool and split“ metodom slojeva leukocita i trombocita koji su resuspendirani u plazmi ili u jednoj od aditivnih otopina (SSP+, Macopharma ili Intersol, Fenwal). Prvi i peti dan ispitivan je broj trombocita, MPV, pH, glukoza, laktati, bikarbonati, $pO_2$, $pCO_2$, CD62, swirling .

REZULTATI: Svi pripravci koncentrata trombocita u plazmi i aditivnim otopinama zadovolji su sve zahtjeve kontrole kvalitete. Prosječni broj trombocita u bio je najveći u koncentratima trombocita u plazmi, a najmanji u koncentratima trombocita u Intersolu, što korelira i s „recovery“-em broja trombocita koji je iznosio 78% u koncentratima trombocita u plazmi, 73,8% u koncentratima trombocita u SSP+ i 72,4% u koncentratima trombocita u Intersolu. Tijekom skladištenja nije se značajnije mijenjao broj trombocita, MPV i $pO_2$ ni u jednim koncentratima trombocita dok je pad pH, glukoze i bikarbonata odnosno porast laktata bio najveći u koncentratima trombocita u Intersolu. Aktivacijski biljeg CD62 bio je najviši od početka do kraja skladištenja u koncentratima trombocita u Intersolu.

ZAKLJUČAK: Koncentrati trombocita u aditivnim otopina imaju nešto niži broj trombocita nego koncentrati trombocita u plazmi. Ostali parametri kontrole kvalitete ne pokazuju značajne razlike, osim što su pH, nivo laktata, bikarbonata i CD62 ipak nepovoljniji u koncentratima trombocita u Intersolu. Koncentrati trombocita u aditivnoj otopini pružaju brojne prednosti kako bankama krvi tako i bolničkim transfuzijama jer smanjuju broj poslijetransfuzijskih reakcija, olakšavaju davanje ABO inkompatibilnih koncentrata trombocita i planiranje proizvodnje koncentrata trombocita, te omogućuju prikupljanje dodatne količine plazme za kliničku uporabu i frakcioniranje.

Ključne riječi: koncentrati trombocita, aditivna otopina, poslijetransfuzijske reakcije, kontrola kvalitete

# PROMJENE KOJE NASTAJU TIJEKOM ČUVANJA KONCENTRATA ERITROCITA

V. Martić[1], S. Dajak[2], L. Tandara[1]

[1]KBC Split, Zavod za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku, Split, Hrvatska

[2]KBC Split, Centar za transfuzijsku medicinu, Split, Hrvatska

Uvod

Koncentrati eritrocita proizvode se iz donacije pune krvi. Skladište se na +4°C, a rok valjanosti im je 21 do 42 dana ovisno o hranjivoj otopini u kojoj se čuvaju. Ukoliko je na kraju roka valjanosti hemolizirano manje od 0,8% eritrocita doze, zadovoljen je taj kriterij kvalitete pripravka. Zahtjevi za kontrolu kvalitete eritocitnih pripravaka ne uključuju rutinsku kontrolu biokemijskih parametara (AST, LDH, Na, K, Cl i pH) u pripravku.

Cilj

U ovom istraživanju cilj je bio ispitati biokemijske i hematološke promjene koje nastaju tijekom čuvanja koncentrata eritrocita u optimalnim uvjetima.

Materijali i metode

Za deset koncentrata eritrocita bez sloja leukocita i trombocita koji su proizvedeni strandardiziranim postupkom, a čiji je rok valjanosti 35 dana, ispitani su hematološki parametri (E,Hct, Hb, MCV i MCH) i biokemijski parametri (AST, LDH, Na, K, Cl i pH) prvog i 35. dana čuvanja. U tu svrhu korišteni su hematološki analizator Advia 2120i, biokemijski analizator Beckman Coulter AU680 te RapidLab 1265 sistem za mjerenje pH. Statistička obrada podataka izvršena je Microsoft Excel programskom podrškom.

Rezultati

Tijekom skladištenja koncentrata eritrocita broj eritrocita, koncentracija hemoglobina i MCH nisu se značajno promijenili. Na dan isteka roka valjanosti ovih pripravaka blago su porasli Hct (prosječno za 0,1 L/L) i MCV (u prosjeku 7 fL). Posljednjeg dana čuvanja koncentrata AST je prosječno porastao za 14 U/L, dok su LDH i K pokazali najznačajniji porast koncentracije. Koncentracija kalija porasla je gotovo 10 puta, a LDH za prosječno 893 U/L. pH je u tom razdoblju osjetno pao i to sa 7,2 na 6,4 a zabilježen je i pad koncentracije Na u prosjeku za 25 mmol/L i Cl prosječno za 12 mmol/L.

Zaključak

Promjene koje nastaju u koncentratima eritrocita tijekom njihovog čuvanja posljedica su oslabljene aktivnosti $Na^+/K^+$ pumpe zbog čega značajno rastu koncentracije K, LDH i AST u pripravcima, a padaju Na i Cl. Osim toga, u pripravcima dolazi do nakupljanja metaboličkih produkata s posljedičnim značajnim smanjenjem pH. Ipak, hemoliza eritrocita u koncentratima ne prelazi dozvoljene granice određene preporukama vijeća Europe.

Ključne riječi: koncentrati eritrocita, skladištenje, promjene

# **POSTER PREZENTACIJE** / POSTER PRESENTATION

# UTJECAJ TEHNIKE UZORKOVANJA KRVI NA SMANJENJE BROJA HEMOLIZIRANIH UZORAKA ZA LABORATORIJSKE PRETRAGE PRI UZORKOVANJU VENSKE KRVI IZ INTRAVENOZNIH KATETERA

Slavica Sabljak[1], Brankica Tišljarić[1], Ajdin Karadžić[1], Marija Požgaj[2], Vesna Rakić[2], Ingrid Prkačin[2], Sonja Perkov[1]

[1]Klinička bolnica Merkur, Klinički zavod za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu, Zagreb
[2]Klinička bolnica Merkur, Hitna Internististička ambulanta, Zagreb, Hrvatska

**Uvod**: Kroz analizu me unarodno prihvaćenih indikatora kvalitete implementiranih u sustav upravljanja kvalitetom Kliničkog zavoda za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu akreditiranom prema normi HRN EN ISO 15189:2012 pokazalo se da je hemoliza in vitro vodeći uzrok neprihvaćanja uzoraka za analizu, a najveći udio hemoliziranih uzoraka zaprima se iz Hitne internističke ambulante i intenzivnih njega i povezan je s uzimanjem uzoraka krvi iz intravenoznih katetera.
**Cilj**: Budući da je postavljanje intravenske kanile radi parenteralne terapije i uzimanje krvi za laboratorijske pretrage kroz intravensku kanilu uvjetovano potrebom hitnog zbrinjavanja bolesnika u hitnoj službi, cilj ovog istraživanja bio je ispitati da li primjena aspiracijske tehnike uzorkovanja može smanjiti udio hemoliziranih uzoraka i time smanjenjem vremena od uzorkovanja do izdavanja rezultata laboratorijskih pretraga doprinijeti povećanju sigurnosti hitnih internističkih bolesnika.
**Metode**: U periodu od mjesec dana educirano medicinsko osoblje uzorkovalo je krv za hitne laboratorijske pretrage kod 420 bolesnika primljenih u Hitnu internističku ambulantu. Aspiracijska tehnika uzorkovanja kroz intravensku kanilu, pomoću luer adaptera i S-Monovete sustava, primjenjena je ciljano kod izrazito teških bolesnika, dok je standardna tehnika uzorkovanja u epruvete s podtlakom proizvođača Becton Dickinson (BD) primjenjena kod 368 bolesnika. U standardiziranim prijeanalitičkim uvjetima uzorci za laboratorijske pretrage dostavljeni su u Odjel za hitnu i transplantacijsku laboratorijsku dijagnostiku, a hemoliza se detektirala na biokemijskoj epruveti nakon centrifugiranja provedenog prema definiranim kriterijima, preporučenim od proizvođača, vizualno i fotometrijski primjenom LIH reagensa (OSR 62166) na biokemijskom analizatoru Beckman Coulter AU 400 u 368 epruveta s podtlakom i aktivatorom koagulacije trombinom (BD, kat br. 368774) i 52 S-Monovette s aktivatorom koagulacije u obliku kuglica presvučenih silika-gelom (Sarstedt International GmbH, kat.broj. 04.1924.100 S-Monovette Serum 4,0 mL).
**Rezultati**: Kod 52 bolesnika kod kojih se krv za laboratorijske pretrage uzorkovala kroz intravensku kanilu tehnikom aspiracije primjenom S-Monovette sustava nije zabilježena hemoliza. Ukupan broj hemoliziranih uzoraka dobiven primjenom BD trombinske epruvete i standardnog vakuum sistema uzorkovanja primjenom intravenske kanile i bez nje u istraživanom razdoblju bio je 9/368 (2,44 %). Ukupan udio hemoliziranih uzoraka iz Hitne internističke ambulante u navedenom periodu bio je 2,14% (9/420), što je značajan pad u odnosu na prvo polugodište 2015 godine kad se udio hemoliziranih uzoraka kretao u rasponu od 3,41-5,15%.
**Zaključak**: Rezultati ovog preliminarnog istraživanja ukazuju da aspiracijska tehnika uzorkovanja krvi kroz intravensku kanilu značajno doprinosi smanjenju udjela hemoliziranih uzoraka, što ukazuje da bi njena ciljana primjena kod najugroženijih bolesnika značajno doprinijela, uz smanjenje nepotrebnih troškova, efikasnijoj dijagnostičkoj obradi i povećanju sigurnosti hitnih internističkih bolesnika.

**Ključne riječi**: hemoliza, aspiracijska tehnika uzorkovanja

# PRIKAZ SLUČAJA NEUOBIČAJENE INAČICE HEMOGLOBINA – Hb-BEOGRAD

Z. Bačić[1], D. Lenac[1], V. Šupak Smolčić[1,2], L. Bilić-Zulle[1,2]

[1]Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Klinički bolnički centar Rijeka, Rijeka, Hrvatska
[2]Katedra za medicinsku informatiku, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka, Hrvatska

**Uvod**: U odraslih osoba približno 97% hemoglobina čini HbA koji sadrži 2α i 2β globinska lanca. Preostalih 3% hemoglobina uobičajeno čine $HbA_2$ (2α i 2λ) i HbF (2α i 2γ). Poremećaji u sintezi globinskih lanaca mogu biti kvalitativni (hemoglobinopatije) ili kvantitativni (talasemije). Do danas je poznato više od 600 inačica molekule hemoglobina. Većina hemoglobinopatija nije praćena kliničkom manifestacijom jer nema poremećaja funkcije hemogobina pa se često otkriva slučajno. Laboratorijski nalazi u hemoglobinopatijama mogu varirati od vrijednosti unutar referentnih intervala, kada je elektroforeza hemoglobina jedini pokazatelj poremećaja, do teške anemije s promjenama morfologije eritrocita, metabolizma željeza i manifestacijama na drugim organskim sustavima.
**Cilj studije**: Prikaz slučaja bolesnice sa sumnjom na rijetku inačicu hemoglobina, Hb-Beograd u kojoj je glutaminska kiselina zamijenjena valinom na položaju 121 β globinskog lanca.
**Metode**: U Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra Rijeka dijagnostika poremećaja u sintezi hemoglobina zasniva se na nalazu kapilarne elektroforeze hemoglobina (Capillarys Sebia, Sebia, Evry Cedex, Francuska). Hemoglobinske molekule se prema razlici u naboju razdvajaju pod utjecajem visokog napona (9600V) djelovanjem sile elektroendoosmoze, a po izlasku iz kapilare pojedine frakcije se očitavaju i izražavaju relativnim postocima. Metoda ima visoku osjetljivost i razlučivost, a omogućuje razlikovanje i kvantifikaciju mnogih hemoglobinskih inačica. Za potvrdu hemoglobinske inačice potrebno je uzorak analizirati tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti (HPLC), a za definitivnu potvrdu specifične mutacije potrebna je genska analiza.
**Rezultati**: Bolesnica u dobi od 14. godina zaprimljena je na Odjel za ginekologiju Kliničkog bolničkog centra Rijeka s dijagnozom juvenilne metroragije. Zbog stanja teške anemije ($E=3{,}55\times10^{12}$/L, Hb=74 g/L, Hct=0,236 L/L, MCV=66,6 fL, RDW=18,4%) u kojoj je bolesnica zatečena, napravljena je detaljna obrada uključujući i elektroforezu hemoglobina. Elektroforezom je dobiven sljedeći nalaz hemoglobinskih frakcija: HbA=65,6%, HbX=31,5%, $HbA_2$=2,9% gdje frakcija X predstavlja neidentificiranu inačicu u visokom postotku. Program uređaja Capillarys Sebia prepoznaje frakcije prema njihovoj pokretljivosti te nudi moguće hemoglobinske inačice. Od ponuđenih izdvojila se inačica Hb-Beograd koja je karakteristična za zemlje bivše Jugoslavije, Turske i Australije. Postavljena je sumnja na heterozigota za inačicu Hb-Beograd. Heterozigotni nositelji Hb-Beograd nemaju kliničkih manifestacija stoga je prisutnost hemoglobinopatije isključena kao mogući uzrok stanja bolesnice. Bolesnici je nakon obrade i liječenja korigirano krvarenje te posljedična anemija.
**Zaključak**: Kapilarna elektroforeza osjetljiva je metoda kojom je prikazanoj bolesnici opravdano postavljena sumnja na heterozigota za Hb-Beograd. Za definitivnu potvrdu treba napraviti HPLC ili gensku analizu, međutim to nije uzrok nastanku bolesti zbog koje je obrađena.

**Ključne riječi**: hemoglobinopatija, Hb-Beograd, kapilarna elektroforeza

# HOW SECRETOR STATUS AND BLOOD GROUP INFLUENCE FUNGAL INFECTIONS IN DIABETES MELLITUS TYPE 2

Fabiana Ribeiro[1], Amélia Pereira[2], Ana Borges[2], Ana Meneses[2], Ana Valado[1], Armando Caseiro[1], Nádia Osório[1], Clara Rocha[3,4], Júlio Loureiro[2], Maria Larcher[2],Maria Loureiro[2], Regina Rigueiro[2], António Gabriel[1] and Fernando Mendes[1,5,6,7]

[1]Biomedical Laboratorial Sciences Department, Coimbra Health School, Polytechnic Institute of Coimbra, Coimbra, Portugal; [2]Clinical Pathology Laboratory, Hospital District of Figueira da Foz E.P.E, Figueira da Foz, Portugal; [3]Polytechnic Institute of Coimbra, ESTESC – Coimbra Health School, Department Complementary Sciences, Coimbra, Portugal; [4]Institute for Systems Engineering and Computers at Coimbra, Coimbra, Portugal; [5]Biophysics and Biomathematics Institute, IBILI-Faculty of Medicine, University of Coimbra, Portugal; [6] CIMAGO, FMUC-Faculty of Medicine, University of Coimbra, Portugal; [7]CNC.IBILI, Universidade de Coimbra, Portugal.

**INTRODUCTION**: Diabetes is a common disease and your incidence is increasing. It is estimated that in 2025 will reach a total of 5.4% of the population, according to World Health Organization. Diabetes has a high morbidity and mortality and consequent decreased quality of life. Individuals with this pathology are more susceptible to certain infections, including fungal infections, particularly uncontrolled diabetes. The ABH antigens are present in body fluids and organic secretions, in secretor individuals, that said, it is believed that non-secreting subjects may be more prone the occurrence of fungal infections, since these antigens act as a barrier to the microorganism's invasion of the body. Also IgA has a fundamental role in the prevention of fungal infections, protects against invading microorganisms on mucosal surfaces.
**AIMS**: Relate the prevalence of fungal infections in diabetic patients, with secretor status, glucose values, IgA and HbA1c.
**METHODS**: Sample population was constituted of 19 DM2 patients and 19 individuals who don't have any chronic disease (control), in which we compared the prevalence of fungal infections. Subsequently we determined and compared the blood group, secretor status, glucose, IgA and HbA1c values in DM2 patients with or without fungal infections. For the control group we determined also the Lewis group. Laboratory procedures, a sample of was collected a peripheral blood as well as saliva sample, from each participant. For the statistical analysis was used the statistical program IBM SPSS® v.19RESULTS: There is a higher prevalence of fungal infections in the group consisting of diabetic patients (26.3%) compared to the control group (0%). Within patients group diabetic the prevalence was higher in non-secretor individuals (44.4%). Regarding levels of glucose, IgA and HbA1c results were not significant; however we detect some variations, which could be demonstrated significant with a larger number of samples.
**CONLUSION**: This study found a higher prevalence of fungal infections in diabetics as compared with the control group, also was possible to verify higher prevalence in individual's non-secretor with these infections. As for the glucose, IgA and HbA1c value, despite not having significant different values we support importance to monitor these parameters; in order to prevent future fungal infections in these diseased.

**KEYWORDS**: Diabetes Mellitus, fungal infections, blood group, secretor status, immunoglobulin A.

# USPOREDBA KALCIJA I ANORGANSKIH FOSFATA U UZORCIMA ZAKISELJENE I NEZAKISELJENE 24h MOKRAĆE

J.Turčin[1], I.Čižmek[1], L.Čaržavec[1], D.Polak Erceg[1], A.Klasić[1], V.Šenjug[1]

[1]Specijalna bolnica za medicinsku rehabilitaciju Krapinske Toplice, Krapinske Toplice, Hrvatska

**Uvod**: Određivanje kalcija i anorganskih fosfata u 24h mokraći (Ca-dU, Phos-dU) najčešći su zahtjevi traženi iz uzorka 24 h mokraće u našem laboratoriju. Određuju se na analizatoru Beckman Coulter AU400. Prema preporuci proizvođača, uzorke 24 h mokraće potrebno je prije analize zakiseliti sa 6M HCl.

**Cilj studije**: Usporediti rezultate za Ca-dU i Phos-dU iz uzoraka 24 h mokraće pripremljenih na dva načina: alikvot nezakiseljene mokraće i alikvot mokraće zakiseljene sa 6M HCl.

**Metode**: U ispitivanje je uključeno 47 uzoraka 24 h mokraće u kojima je koncentracija kalcija i anorganskih fosfata određena fotometrijom s arsenazo III kromogenom (Ca-dU) i amonij molibdatom (Phos-dU) na biokemijskom analizatoru AU 400. Dobiveni rezultati obrađeni su Passing-Bablok regresijskom analizom u programu MedCalc.

**Rezultati**: Usporedbom zakiseljenih i nezakiseljenih uzoraka 24 mokraće dobiveni su sljedeći podatci: za kalcij y=0,00+1,00x, uz 95% interval pouzdanosti za odsječak -0,04 do 0,00 i za nagib 1,00 do 1,03; za anorganske fosfate y=0,10+1,00x, uz 95% interval pouzdanosti za odsječak -0,40 do 0,58 i za nagib 0,97 do 1,03. Cusumov test linearnosti pokazao je da nema značajnog odstupanja od linearnosti (kalcij: P=0,05; anorganski fosfati: P=0,65).

**Zaključak**: Passing-Bablok regresijskom analizom utvrđeno je da ne postoji konstantna ni proporcionalna pogreška za kalcij i anorganske fosfate u uzorcima zakiseljene i nezakiseljene 24 h mokraće. S obzirom na preporuku proizvođača da se koristi uzorak 24 h mokraće zakiseljen sa 6M HCl, dobivene rezultate potrebno je potvrditi daljnjim ispitivanjem na većem broju uzoraka i širem rasponu koncentracija, u cilju utvrđivanja potrebe prethodnog zakiseljavanja 24 h mokraće kod odre ivanja Ca-dU i Phos-dU.

**Ključne riječi**: kalcij, anorganski fosfati, 24 h mokraća

# UZORAK SUHE KAPI KRVI NA FILTAR PAPIRU U DIJAGNOSTICI LIZOSOMSKIH BOLESTI NAKUPLJANJA: PREDANALITIKA IZVAN LABORATORIJA

Ljiljana Špiljar, Aleksandra Delak Fidri, Josipa Gulin, Ana Ramljak, Karmen Bilić, Marija Zekušić, Ana Škaričić, Ksenija Fumić

Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Klinički bolnički centar Zagreb, Kišpatićeva 12, Zagreb

**UVOD**: Lizosomske bolesti nakupljanja čini skupina od oko 55 nasljednih metaboličkih bolesti nastalih kao posljedica nemogućnosti razgradnje različitih makromolekula u lizosomima. Klinička slika izrazito je heterogena, što znatno otežava njihovo prepoznavanje. Neke od tih bolesti se mogu i uspješno liječiti ako se na vrijeme postavi dijagnoza.
Suha kap krvi na filtar papiru (*engl.Dried Blood Spot*, DBS) sve više nalazi primjenu i u selektivnoj laboratorijskoj dijagnostici ove skupine bolesti. Međutim, veći dio predanalitičkih postupaka odvija se izvan laboratorija što može značajno utjecati na tumačenje izmjerenih vrijednosti.
**MATERIJAL I METODE**: U periodu od 2013.-2016. godine primili smo iz suradnih ustanova 3605 DBS (filter papir Watman 903®), a u laboratoriju smo iz EDTA-krvi priredili 1340 DBS uzorka bolesnika s kliničkom sumnjom na moguću lizosomsku bolest nakupljanja (Fabrijevu bolest, Pompeovu bolest, Gaucherovu boelest i/ili Mukopolisaharidozu tipa I). Aktivnosti lizosomskih enzima mjerene su "*in house*" metodama uz sintetske 4-metilumbeliferonske supstrate. Fluorescencije su očitavane na fluorimetru (Varian Cary Eclipse) u crnim mikrotitarskim pločicama.
**REZULTATI**: Mjerenjem aktivnosti lizosomskih enzima uz odgovarajući kontrolni enzim predanalitički uzroci ponavljanja (nepravilno nakapani, osušeni i transportirani uzorci) uočeni su iz DBS poslanih iz suradnih ustanova: β-glukozidaza (n=2327; 12%), α-glukozidaza (n=2799; 22%), α-galaktozidaza (n=1998, 17%), α-L-iduronidaza (n=1135, 18%). Uzorci DBS priređeni u laboratoriju bili su bez predanalitičkih problema.
**ZAKLJUČAK**: Naša dosadašnja iskustva su pokazala da u dijagnostici lizosomskih bolesti nakupljanja DBS ima niz prednosti u odnosu na druge načine uzorkovanja: minimalno invazivan način uzimanja krvi, mali volumen krvi (oko 60 µl), aktivnost lizosomskih enzima stabilna je do tri mjeseca na sobnoj temperaturi, uzorci se jednostavno poštom šalju do laboratorija. Ograničavajući čimbenici su hematokrit, utjecaj hemoglobina na fluorimetrijska mjerenja i posebice predanalitika izvan laboratorija. Dodatna edukacija zdravstvenih djelatnika uključenih u pripremu i slanje DBS uzorka smanjila bi učestlost ponavljanja uzorkovanja. Zbog svega navedenog, izmjerene snižene aktivnosti lizosomskih enzima iz DBS moraju se potvrditi mjerenjem u drugim biološkim uzorcima (homogenatu leukocita/limfocita ili fibroblasta; odnosno analizom DNA).

**Ključne riječi**: lizosomski enzimi, suha kap krvi na filtar papiru, predanalitika

# INTERFERENCIJA GLUKOZE U MJERENJU KONCENTRACIJE BIOKEMIJSKIH PARAMETARA

Manuela Mikša, Nora Nikolac, Nada Vrkić

Klinički zavod za kemiju, Klinički bolnički centar „Sestre milosrdnice“, Zagreb

Uvod: Prisutnost interferencija u uzorcima dovodi do pogreške u mjerenju koja može uzrokovati lažno povišen ili lažno snižen rezultat za bolesnika. Iako su najčešće interferencije u medicinskoj biokemiji hemoliza, lipemija i ikterija, u svakodnevnom radu treba biti svjestan da i brojne druge supstance (kao npr. glukoza) mogu utjecati na mjerenja. U hitnom laboratoriju Kliničkog bolničkog centra obra uju se uzorci bolesnika s posebno teškim kliničkim stanjima pa se tako u rutinskoj praksi nailazi i na uzorke bolesnika s šećernom bolesti s ekstremno visokom koncentracijom glukoze (> 40 mmol/L).
Cilj: Cilj ovog istraživanja bio je ispitati utjecaj visoke koncentracije glukoze na rezultate biokemijskih parametara u serumu.
Materijali i metode: Ovo je istraživanje provedeno u Kliničkom zavodu za kemiju, Kliničkog bolničkog centra „Sestre milosrdnice“ u Zagrebu. Od ostatnih uzoraka seruma nakon rutinske obrade napravljen je *pool* (smjesa) seruma koji je zamrznut 48 sati na -20 ºC. Nakon odmrzavanja, uzorak je razdjeljen u 8 alikvota označenih $G_0$-$G_7$. Koncentrirana otopina glukoze (554 mmol/L) napravljena je otapanjem 1 grama glukoze u 10 mL destilirane vode. Dodavanjem različitih količina koncentrirane otopine glukoze u *pool* seruma napravljeno je 7 uzoraka s rastućim koncentracijama glukoze ($G_0$ (bez dodane glukoze)=5,5 mmol/L; $G_1$=18,1 mmol/L; $G_2$=31,4 mmol/L; $G_3$=46,7 mmol/L; $G_4$=61,1 mmol/L; $G_5$=70,1 mmol/L; $G_6$=95,1 mmol/L i $G_7$=133,6 mmol/L). U svim uzorcima izmjerene su koncentracije biokemijskih parametara: glukoza, bilirubin, urea, kreatinin, kalij, natrij, kloridi, gama-glutamiltransferaza, aspartat-aminotransferaza, alanin-aminotransferaza, kreatin-kinaza, laktat-dehidrogenaza, amilaza i ukupni proteini na analizatoru Abbott Architect c8000 (Abbott, IL, SAD) korištenjem originalnih reagensa proizvođača. Usporedbom koncentracija parametara u uzorcima $G_1$-$G_7$ s uzorkom $G_0$ izračunat je postotak odstupanja za svaku pretragu.
Rezultati: S iznimkom kreatinina, za sve ostale pretrage u svim koncentracijskim razinama glukoze, odstupanja su bila manja od 5%, što se smatra prihvatljivim, za kreatin su odstupanja bila znatno veća. Neprihvatljivo odstupanje je bilo već na uzorku $G_3$ (16,56%) i znatno više na ostalim koncentracijskim razinama ($G_4$=24,77%, $G_5$=28,33%, $G_6$=34,74% i $G_7$=45,25%).
Zaključak: Rezultat za kreatinin mjeren Jaffe metodom na analizatoru Abbott Architect c8000 nepouzdan je pri koncentracijama glukoze višim od 46,7 mmol/L, dok na rezultate ostalih biokemijskih pretraga ne utječe visoka koncentracija glukoze.

Ključne riječi: predanalitička faza; interferencije; glukoza; kreatinin

# USPOREDBA VRIJEDNOSTI GLUKOZE NA AUTOMATSKOM ANALIZATORU OLYMPUS AU 5800 I APARATU ZA ODREĐIVANJE GLUKOZE UZ BOLESNIKA ACCU-CHECK INFORM (COBAS)

M. Križanec[1], R. Žilić[1], E.Fišić[1]

[1]Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Klinički bolnički centar Rijeka, Rijeka, Hrvatska

Uvod: Uspoređivali smo vrijednosti glukoze određivane na automatskom analizatoru Olympus AU 5800 (Beckman Coulter, Ireland) i na aparatu za određivanje glukoze uz bolesnika ACCU-CHEK Inform (Cobas, Germany) (engl. *point of care POC*).
Cilj istraživanja: Cilj našeg istraživanja je bio odrediti pouzdanost glukometra ACCU-CHEK Inform. u usporedbi sa referentnim laboratorijskim sustavom (automatski analizator Olympus AU 5800).
Ispitanici i metode: Na uzorku od 78 ispitanika, od kojih 56 žena (u rasponu dobi od 19 do 79 godina) i 22 muškarca (u rasponu dobi od 33 do 69 godina) odredili smo koncentraciju glukoze u serumu enzimskom metodom glukoza-heksokinaza i iz kapilarne krvi na glukometru ACCU-CHEK enzimskom metodom glukoza dehidrogenazom, gdje se iz glukoze kao krajnji produkt stvara glukonolakton i električni signal tj.struja koju instrument interpretira kao vrijednost glukoze u krvi. Uspoređivali smo vrijednosti glukoze u krvi određivane na automatskom analizatoru Olympus AU 5800 (Beckman Coulter, Ireland) i na aparatu za određivanje glukoze uz bolesnika ACCU-CHEK Inform (Cobas, Germany).
Rezultati: Na automatskom analizatoru Olympus AU 5800 vrijednosti glukoze u serumu kretale su se od 2,80 mmol/L do 18,90 mmol/L, srednja vrijednost 7,01; SD 3,11, a na glukometru ACCU-CHEK Inform. Vrijednosti glukoze u kapilarnoj krvi kretale su se od 3,30 mmol/L do 19,10 mmol/L; srednja vrijednost 7,26, SD 2,96. Parnim t-testom dokazano je da nema statistički značajne razlike između grupa (df=77, p>.05).
Zaključak: Aparat za određivanje glukoze uz bolesnika ACCU-CHEK Inform, pouzdan je za mjerenje koncentracije glukoze u kapilarnoj krvi.

Ključne riječi: glukoza u krvi, usporedba rezultata

# STANDARDIZACIJA PROCESA PRIJE ISPITIVANJA U KLINIČKOJ PRIMJENI MASENE SPEKTROMETRIJE

A.Karadžić[1], R.El Barq[1], S.Sabljak[1], A.Radeljak[1]

[1]Klinički zavod za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu, KB Merkur, Zagreb

Uvod: Svakodnevno praćenje koncentracije imunosupresiva u transplantiranih pacijenata nužno je kako bi se primijenjenom dozom lijeka osigurao farmakološki učinak uz minimalnu učestalost nuspojava. Tekućinska kromatografija visoke učinkovitosti s dvojnom spektrometrijom masa (LC-MS/MS) je zlatni standard u terapijskom praćenju ovih lijekova zbog svoje izrazite specifičnosti i osjetljivosti.

Cilj studije: Cilj studije bio je optimizirati i standardizirati procese prije ispitivanja kako bi se omogućila klinička primjena masene spektrometrije i svakodnevno određivanje koncentracije imunosupresiva (ciklosporin, takrolimus, sirolimus, everolimus) u transplantiranih pacijenata.

Metode: Procesi prije ispitivanja koje smo željeli stadardizirati uključivali su pripremu pacijenta za uzorkovanje, dostavu uzoraka, priprema radnog reagensa, ekstrakcija analita precipitacijom, kalibracija sustava i provođenje unutarnje kontrole kvalitete, održavanje stabilnih uvjeta radne okoline i sljedivost uzoraka pomoću crtičnog koda kroz sve laboratorijske procese. Analiza uzoraka LC-MS/MS metodom, akreditiranom prema HR EN ISO 15189:2012, provodi se na sustavu Shimadzu UPLC NEXERA X2 - LCMS-8040.

Rezultati: Uzorkovanje krvi za određivanje koncentracije imunosupresiva provodi se ujutro, netom prije sljedeće doze lijeka. Uzorak je puna krv, uzeta uz antikoagulans $K_3$-EDTA. Uzorci se dostavljaju na sobnoj temperaturi. Svi uzorci dostavljeni radnim danom do 9h analiziraju se isti dan. Ovisno o broju uzoraka toga dana priprema se radni reagens, sačinjen od precipitirajućeg reagensa i internog standarda. Prilikom provođenja postupka ekstrakcije precipitacijom nužno je učestalo miješanje radnog reagensa kako bi se osigurala homogenost smjese. Na taj način osigurava se jednaka količina internog standarda u svim uzorcima, što je nužno za ispravnu kvantifikaciju rezultata. Kalibracija sustava provodi se jedanput dnevno, na početku rada, nakon čega slijedi analiza uzoraka pacijenata u serijama. Unutarnja kontrola kvalitete provodi se analiziranjem komercijalnih kontrolnih uzoraka na početku i na kraju svake serije. Za dobivanje reproducibilnih rezultata nužno je održavati temperaturu radne okoline izm u 21°C i 23°C, što se postiže kontinuiranim radom klimatizacijskih ure aja. Identifikacija uzoraka crtičnim kodom i umrežavanje analitičkog sustava u laboratorijski informatički sustav omogućili su sljedivost od uzorkovanja do izdavanja rezultata.

Zaključak: Korištenje LC-MS/MS tehnologije u svakodnevnom rutinskom laboratorijskom radu i njezina klinička primjena, uz uvjet dnevnog izdavanja rezultata pretraga, moguće je uz standardizaciju procesa prije ispitivanja. Poštivanjem propisanih postupaka kroz ukupni laboratorijski proces, postignuto je izdavanje prvih rezultata pretraga 2 sata nakon zaprimanja uzoraka. Klinička primjena ove izrazito zahtijevne tehnologije biti će jednostavija, brža i efikasnija budućom primjenom automatiziranog sustava za predtretman uzoraka, što je nužan preduvjet za analizu većeg broja uzoraka na dnevoj bazi.

Ključne riječi: kromatografija, masena spektrometrija, imunosupresivi, transplantacija

# INFORMATIZACIJA PREDANALITIČKIH I POSTANALITIČKIH POSTUPAKA U AKREDITIRANOM LABORATORIJU

Sanja Radojčić[1], Snježana Furda[1], Nevenka Stančin[1]

[1] Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku KB Dubrava, Zagreb

## UVOD

Predanalitički postupci u KZLD KB Dubrava olakšani su pomoću PipIn i SortIn uređaja, a procesi postanalitičke faze upotrebom ArchivIn uređaja. PipIn je uređaj za evidentiranje i identifikaciju polikliničkih pacijenata koji dolaze na uzorkovanje u KZLD. SortIn je uređaj za zaprimanje bolničkih uzoraka donesenih u KZLD. ArchivIn je sustav za kratkotrajnu ili dugotrajnu pohranu uzoraka.

## CILJ

Cilj ovog preglednog rada je prikazati naše iskustvo stečeno uvođenjem navedenih uređaja za zaprimanje i arhiviranje uzoraka u KZLD KB Dubrava.

## METODE I MATERIJALI

Uređaj PipIn se sastoji od: PipIn terminala, barkod čitača te uređaja za identifikaciju vadilice. Nakon uključivanja, prijava korisnika izvodi se putem identifikacijske kartice. Prislanjanjem barkoda na barkod čitač provodi se identifikacija pacijenta (ime i prezime, datum i godina rođenja, liječnik koji je zatražio pretragu te sve zatražene pretrage). Nakon skeniranja barkoda u LIS-u se mogu vidjeti podaci tko je i u koje vrijeme uzorkovao materijal.

SortIn je uređaj s radnom aplikacijom na koju se prijavljuje identifikacijskom karticom. Barkodirani uzorci bolničkih pacijenata zaprimaju se dodirom na optički sustav. Prilikom skeniranja na SortIn-u se prikazuje: ime i prezime pacijenta, datum i godina rođenja, odjel i liječnik koji je uputio pacijenta te sve pretrage koje su zatražene. Također je vidljivo da li je uzorak hitno upućen.

ArchivIn je uređaj koji služi za pohranu uzoraka. Aktivira se upisivanjem korisničke šifre te se otvara korisnički prozor aplikacije. Pohrana uzoraka vrši se u odgovarajućim stalcima koji se umeću na ArchivIn. Arhiviranje se vrši prislanjanjem barkodirane epruvete na optički sustav te se one stavljaju na odgovarajuće mjesto na stalku. Pri arhiviranju uređaj signalizira ako neka analiza nije završena. Moguća je kratkotrajna ili dugotrajna pohrana uzoraka. Nakon isteka vremena predviđenog za pohranu, uzorci se brišu sa tih stalaka.

## ZAKLJUČAK

Korištenjem ovih uređaja znatno je olakšan posao zaprimanja i spremanja uzoraka. Ovakvim načinom prijema materijala postignuta je slijedivost i olakšano praćenje polikliničkih i bolničkih te hitnih i redovnih uzoraka od ulaska u KZLD do njihovog arhiviranja i spremanja. Ovaj sustav omogućio je slijedivost osoblja i uzoraka od uzorkovanja, prijema do pohrane što je ujedno i zahtjev norme HRN EN ISO 15189 po kojoj je akreditiran KZLD KB Dubrave.

KLJUČNE RIJEČI: PipIn, SortIn, ArchivIn

# PREDANALITIČKA OBRADA UZORKA ZA MJERENJE KALPROTEKTINA

S. Piškor[1], Lj.Uroić[1], A.Mlinarić[1] , Ž.Vogrinc[1]

[1]Klinički bolnički centar Zagreb, Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Zagreb, Hrvatska

Uvod: Kalprotektin je protein prisutan u visokim koncentracijama u neutrofilnim granulocitima, monocitima i makrofagima, a njegove koncentracije su povišene u različitim upalnim stanjima. Mjerenje fekalnog kalprotektina se koristi u diferencijalnoj dijagnostici bolesti crijeva jer su koncentracije u stolici značajno povišene kod upalnih bolesti crijeva kao što su Chronova bolest i ulcerozni kolitis. Određivanjem fekalnog kalprotektina moguće je razlikovati funkcionalne bolesti crijeva od upalnih bolesti čime se izbjegavaju invazivne endoskopske pretrage (kolonoskopija, biopsija). Kod pacijenata sa dokazanom upalnom bolesti crijeva koristi se za praćenje tijeka bolesti i odgovora na terapiju. Kao uzorak se koristi vrlo mala količina stolice.

Cilj studije: Cilj rada je bio usporediti i odrediti ima li razlike u rezultatima mjerenja kalprotektina u stolici ako se za pripremu uzorka koristi točno odvagana količina stolice ili se u predanalitičku obradu uzima neka standardizirana količina (npr. komadić stolice veličine graška) bez odvage.

Metode:
Za ekstrakciju su korištene ekstrakcijske epruvete tvrtke Buhlmann, a kalprotektin je određivan enzimimunokemijskom metodom (Calprotectin ELISA, Buhlmann). Uspoređeno je 30 uzoraka pacijenata kojima je kalprotektin izmjeren u ekstraktu stolice dobivenom sa i bez vaganja stolice.

Rezultati:
Usporedbom rezultata mjerenja kalprotektina u ekstraktima stolice pripremljenim prema protokolu s točnom odvagom s rezultatima mjerenja kalprotektina u ekstraktima stolice pripremljenim bez vaganja dobivena je dobra korelacija rezultata (r=0,9995; p 0,0001).

Zaključak:
Dobivene vrijednosti kalprotektina su pokazale da nema značajnih razlika za kliničko tumačenje nalaza bez obzira da li se u postupku koristila točno odvagana količina stolice ili standardizirana količina bez vaganja.

Ključne riječi: kalprotektin, ELISA

# ANALIZA I VREDNOVANJE POKAZELJA RIZIKA U PROCESIMA PRIJE ISPITIVANJA AKREDITIRANOG MEDICINSKO BIOKEMIJSKOG LABORATORIJA

Slavica Sabljak, Raed El Barq, Ajdin Karadžić, Mirela Karabegović, Ivana Račić, Sonja Perkov

[1]Klinička bolnica Merkur, Klinički zavod za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicine Zagreb, Hrvatska

UVOD:
U stalnom nastojanju ka unapređenju kvalitete i povećanju sigurnosti bolesnika u Kliničkom Zavodu za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu akreditiranom prema normi HRN EN ISO 15189:2012 uvedeni su međunarodno harmonizirani indikatora kvalitete u cjelokupnom laboratorijskom procesu.
Kako su procesi prije ispitivanja najkompleksniji i najpodložniji pogreškama cilj provedene retrospektivne analize bio je vrednovanje pokazatelja rizika u prijeanalitičkom procesu u Odjelu za hitnu i transplantacijsku laboratorijsku dijagnostiku, u kojem je zabilježen najveći udio pogrešaka.
METODE: Analiza rizika obuhvatila je imenovanje tima za procjenu rizika, definiranje područja procjene, opis karakteristika kvalitete i analizu odstupanja u dijelu zadavanja pretraga (6 indikatora), identifikacije uzoraka i uputnice (4 indikatora), kvalitete i kvantitete uzorka(7 indikatora), te prijenosa i dostave uzoraka (5 indikatora). Za vrednovanje pokazatelja rizika korištena je FMEA (engl. *Failure Modes and Effects Analysis*) metodologija - analiza utjecaja i posljedica pogrešaka. Vjerojatnost nastanka odstupanja (engl. *Probability of Failure, PF*) procjenjena temeljem analize prijeanalitičkih indikatora kvalitete tijekom šest mjeseci, procjena značenja odstupanja (*Failure Demerit Value, FDV*) i vjerojatnost otkrivanja odstupanja (*Probaility of Failure Remedy, PFR*) bodovani su na ljestvici od 1-10, te je izračunat pokazatelj veličine rizika (*Risk priority Number, RPN*) za svako stvarno i moguće odstupanje.
REZULTATI: Rangiranjem rizika prema RPN-u identificirano je 5 nesukladnosti koje zahtjevaju provođenje odgovarajućih preventivnih/korektivnih radnji: hemolizirani uzorci (RPN, 168), pogreške u identifikaciji uzorka (RPN, 162), zgrušani uzorci (RPN, 90), nedovoljan volumen uzorka (RPN, 72) i uzorak dostavljen na neodgovarajućoj temperaturi (RPN, 24). Nakon edukacije osoblja koje sudjeluje u procesima prije ispitivanja unutar i izvan laboratorija,sukladno akreditacijskim zahtjevima i nacionalnim smjernicama za uzorkovanje venske i kapilarne krvi reevaluacija vrednovanja rizika pokazala je značajno smanjenje razine rizika: hemolizirani uzorci (RPN, 96), pogreške u identifikaciji uzorka (RPN, 72), zgrušani uzorci (RPN, 48), nedovoljan volumen uzorka (RPN, 36) i uzorak dostavljen na neodgovarajućoj temperaturi (RPN, 16).
ZAKLJUČAK: Praćenje indikatora kvalitete usmjernih na bolesnika i analiza pogrešaka kroz analizu rizika uz sustavno provođenje edukacije osoblja koje sudjeluje u procesima prije ispitivanja od zadavanja pretraga, pripreme bolesnika za uzorkovanje, uzorkovanja, te prijenosa i dostave uzoraka u laboratorij, omogućava učinkovito smanjenje prijeanalitičkih pogrešaka što značajno doprinosi poboljšanju bolesničke skrbi i kliničkog ishoda.

KLJUČNE RIJEČI: procesi prije ispitivanja, analiza rizika

# ODREĐIVANJE PROTUTIJELA NA NUKLEARNE ANTIGENE LUMINEX METODOM

N.Radić, R.Galović, A.Kozmar

Klinički bolnički centar Zagreb, Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Zagreb, Hrvatska

UVOD:
Određivanje serumskih autoprotutijela i njihovih ciljnih antigena najvažniji je dio rutinske laboratorijske imunodijagnostike sistemskih autoimunih bolesti. U tu se svrhu koriste imunološke metode pretraživanja kojima se otkrivaju autoprotutijela i potvrdne metode kojima se utvrđuje specifičnost autoprotutijela. Kao standardna metoda pretraživanja za određivanje protutijela na nuklearne antigene (ANA/ENA) koristi se indirektna imunofluorescencija (IIF), dok Luminex test s mikrokuglicama služi kao potvrdna metoda.

CILJ STUDIJE:
Cilj studije je usporediti ANA/ENA pozitivnost AtheNA-ANA multipleks Luminex testom s metodom indirektne imunofluorescencije.

PACIJENTI I METODA:
Serumski uzorci 100 pacijenata sa sistemskim autoimunim bolestima su testirani metodom IIF na Hep-2 stanicama i Luminex metodom. AtheNA-ANA multiplex Luminex test (Zeus Scientific Inc., USA) sadrži sljedeće autoantigene: ds-DNA, histoni, SS-A, SS-B, Sm, RNP, DNA topo I, Jo-1 and CENP B. Luminex metodom s mikrokuglicama je omogućena istodobna detekcija autoprotutijela na ciljne antigene u uzorku seruma.

REZULTATI:
Svi uzorci seruma su bili pozitivni na ANA/ENA antigene IIF metodom. Od toga 83% uzoraka je bilo pozitivno na različite ANA/ENA antigene Luminex metodom.

ZAKLJUČAK:
Luminex metoda je korisna u detekciji ANA/ENA autoprotutijela i predstavlja pouzdanu potvrdnu metodu za dokazivanje specifičnosti autoprotutijela. Prednost metode je mogućnost istodobne detekcije devet različitih autoprotutijela.

KLJUČNE RIJEČI: ANA/ENA, protutijela, antigen

# MOBILNI TELEFONI KAO POTENCIJALNI IZVOR INFEKCIJE

G Begić[1], M Abram[1,2]

**Uvod:** Mikroorganizmi preživljavaju na različitim površinama koje na taj način postaju potencijalni rezervoar infekcije. Rukovanje mobilnim telefonima u bolnicama predstavlja rizik za prijenos mikroorganizama te mogući izvor bolničkih infekcija. Standardne procedure čišćenja uređaja ili čak smjernica za korištenje mobitela u bolnicama još treba utvrditi.

**Cilj:** Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi razinu i vrstu mikrobne kontaminacije na mobilnim uređajima studenata Medicinskog fakulteta u Rijeci i laboratorijskih djelatnika u Kliničkom bolničkom centru u Rijeci. Nadalje, cilj je bio utvrditi postoje li razlike u mikrobnoj kontaminaciji mobilnih telefona između ovih dviju skupina na temelju spola ispitanika te vrste tipkovnice mobilnog telefona.

**Ispitanici i metode:** U istraživanju je sudjelovalo ukupno 154 ispitanika, 83 studenta Medicine i 71 laboratorijski djelatnik. Uziman je otisak površine njihovih mobilnih telefona, CT3P agarom te se nakon inkubacije od 24 sata na 35±2°C odredio ukupan broj bakterija po $cm^2$ ($CFU/cm^2$). Bakterije su identificirane nakon porasta čiste kulture na temelju makroskopskog i mikroskopskog izgleda te različitih biokemijskih testova.

**Rezultati**: Ukupan broj bakterija bio je značajno veći u skupini studenata te muških ispitanika. U obje skupine ispitanika na mobilnim uređajima dominiraju *S. epidermidis* i drugi koagulaza negativni stafilokoki, *Micrococcus* spp., *Corynebacterium* spp. Međutim, detektirani su i *S. aureus*, *Proteus* te *Enterococcus* spp., poznati uzročnici bolničkih infekcija. Nije bilo značajne razlike u mikrobnoj kontaminaciji mobilnih telefona s tipkovnicom u odnosu na one s ekranom osjetljivim na dodir.

**Zaključak**: Izolirane bakterijske vrste koje uglavnom pripadaju mikrobioti kože i probavnog sustava ukazuju da na kontaminaciju mobilnih telefona utječe, prije svega, higijena ruku. Uz kontinuiranu edukaciju o higijeni ruku nameće se potreba uvođenja edukacije te smjernica za provođenje i kontrolu higijene mobilnih telefona u zdravstvenim ustanovama.

**Ključne riječi:** mobilni telefoni; bakterije; bolničke infekcije;

---

[1] Katedra za mikrobiologiju i parazitologiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka, Hrvatska

[2] Klinički zavod za kliničku mikrobiologiju, Klinički bolnički centar Rijeka, Rijeka, Hrvatska

# DISTRIBUCIJA GENOTIPOVA I SUBTIPOVA VIRUSA HEPATITISA C U RAZDOBLJU OD 2010-2015.G.

Ivana Baća Vrakela[1], Nataša Kutela Krilić[1], Janja Iščić Beš[1], Bruna Bolarić[1], Snježana Židovec Lepej[1]

[1]Klinika za infektivne bolesti «Dr. Fran Mihaljević», Odjel za imunologiju i molekularnu dijagnostiku, Zagreb, Hrvatska

Uvod:
Virus hepatitisa C (HCV) je globalno rašireni patogen kojim je u svijetu zaraženo oko 150 milijuna ljudi, a u Hrvatskoj oko 40 000 ljudi. Predstavlja veliki javnozdravstveni problem jer izaziva cijeli spektar simptoma od blagih i neprepoznatljivih do kroničnog hepatitisa, ciroze jetre i hepatocelularnog karcinoma. HCV je RNA virus iz porodice *Flaviviridae* koji ima 9400 nukleotidnih parova baza koji kodiraju tri strukturalna i sedam nestrukturalnih proteina. Ima veliku genetičku varijabilnost pa ga tako nalazimo u 7 različitih genotipova te iznimno velikom broju subtipova. Genotipizacija je važan dio dijagnostike HCV-a iz epidemioloških razloga, ali još važnije i zbog određivanja terapijskih algoritama (uz određivanje viremije, IL28B i detekcije mutacije Q80K).
Materijali i metode: U razdoblju od 2010.-2015.godine određeni su genotipovi i subtipovi HCV-a za 858 pacijenata s kroničnim hepatitisom C u Klinici za infektivne bolesti «Dr. Fran Mihaljević» u Zagrebu primjenom testa «HCV Genotype 2.0 Assay», Inno Lipa.
Ovaj test se najčešće koristi u kliničkoj dijagnostici za genotipizaciju HCV-a, a temelji se na molekularnim metodama ( RT-PCR i hibridizacija). Kako bi se odredio genotip HCV-a umnožavaju se dvije konzervirane regije «5-UTR» i «core» regija nakon čega slijedi hibridizacija s oligonukleotidnim probama koje tvore 60 različitih obrazaca linija koji su specifični za pojedini genotip/subtip.
Rezultati: U analiziranoj skupini bolesnika s kroničnim hepatitisom C najzastupljeniji je bio genotip 1 sa 64.92% dok je u 30.07% uzoraka detektiran genotip 3. Genotipovi 2 i 4 su detektirani u manje od 5% ispitanika. Genotipovi 5 i 6 nisu detektirani u analiziranih ispitanika. Najzastupljeniji subtip HCV-a bio je 1a sa 29.95%, a slijede subtipovi 1b sa 29.84% i 3a sa 29.14%.
Zaključak: Raspodjela genotipova HCV-a u Hrvatskoj slična je raspodjeli u drugim zemljama južne i jugoistočne Europe.

Ključne riječi: hepatitis C virus, genotip, subtip

# DIJAGNOSTIKA PARAZITOZA PROBAVNOG SUSTAVA

J. Lozić, E. Kovačević, S. Bukovski

Klinika za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“, Zagreb, Hrvatska

Uvod
Parazitarne bolesti u većini razvijenih zemalja imaju nisku učestalost, me utim zbog sve većeg broja putnika i migracije stanovništva može se očekivati povećan broj parazitoza posebno probavnog sustava, koje se ne bi trebale zanemariti ni podcijeniti.

Cilj
Cilj ovog istraživanja je bio prikazati kretanje parazitskih patogena probavnog sustava otkrivenih rutinskim dijagnostičkim parazitološkim pretragama. Istraživanje je provedeno u Odjelu za parazitologiju Klinike za infektivne bolesti, u razdoblju od 2011.g. do 2015.g., u kliničkim uzorcima bolesnika, upućenih od liječnika sa sumnjom na crijevne parazitoze.

Materijal i metode
Biološki matreijali koji su obrađeni i analizirani su bili uzorci stolice, perianalni obrisci, duodenalne tekućine, punktati jetrenih cista. Dijagnostički postupci su bile makroskopske i mikroskopske analize (nativno, nakon kultivacije i obojani preparat) uzoraka obrađenih standardnim postupcima nagomilavanja ili koncentracije za dokazivanje prisustva protozoa (trofozoiti, ciste) i helminta (jaja, larve, odrasli oblici). Za dokazivanje fekalnih antigena Entamoeba histolytica, Giardia lamblia i Cryptosporidium parvum korišteni su brzi imunokromatografski testovi.

Rezultati
U razdoblju od 2011. do 2015. godine analizirano je 23 109 uzoraka iz gastrointestinalnog sustava, iz kojih je učinjeno 132 088 pretraga. Udio ispitanih uzoraka iznosio je 89,81 % od svih uzoraka pristiglih na parazitološku analizu (25 732), a povećan je sa 81,20 % (2011.g.) na 95,71 % (2014.g.). Najveći broj 10 022 (43,36 %) uzoraka je pristigao iz Crijevne ambulante i Poliklinike.
Paraziti su pronađeni u 896 uzoraka s prosječnom pozitivnošću od 3,87 %. Najveći broj otkrivenih protozoa, po redoslijedu učestalosti su Giardia lamblia (167), Blastocystis hominis (163), Entamoeba histolytica (142), dok su najčešći helminti Enterobius vermicularis (200), Strongyloides stercoralis (70), Ascaris lumbricoides (29), Taenia saginata (15), Trichiuris trichiura (15), Ancylostoma duodenale (4). Echinococcus granulosus je potvrđen u 25 uzoraka, a Cryptosporidium parvum imunokromatografskim testom u 26 uzoraka.

Zaključak
Iz svega prikazanog vidljivo je da su otkriveni paraziti bili u određenom broju uzročnici bolesti probavnog sustava, te da su dijagnostičke pretrage potvrdile sumnju kliničara. Uočena je povećana prevalencija protozoa Giardia lamblia i Blastocystis hominis, te helminta Enterobius vermicularis, Strongyloides stercoralis i Ascaris lumbricoides. Tema budućih istraživanja bi trebala biti daljnje praćenje pojavnosti parazitoza, kliničke slike kod bolesnika i demografskih podataka, a sve u svrhu suzbijanja parazitarnih bolesti u Hrvatskoj.

Ključne riječi: Parazitoze, probavni sustav, paraziti

# MOLEKULARNA DIJAGNOSTIKA HEPATITIS B VIRUSA U OSJEČKO – BARANJSKOJ ŽUPANIJI

D. Kopjar[1], T. Pastuović[1], S. Loci-Zvocak[1], D. Vuković[1]

[1]Zavod za javno zdravstvo Osječko– baranjske županije

Uvod: Hepatitis B virus (HBV) jedan je od uzročnika upale jetre koja se može manifestirati kao akutna ili kronična bolest. Infekciju HBV karakterizira duga inkubacija te parenteralni način prijenosa. Osim serološke dijagnostike u posljednjih nekoliko godina u mikrobiološkoj obradi bolesnika s hepatitisom B, upotrebljava se i kvantitativno određivanje koncentracije HBV DNA u serumu bolesnika.

Cilj studije: Ispitati i prikazati broj osoba testiranih molekularnom dijagnostikom na HBV u trogodišnjem razdoblju.

Metode: U ovom retrospektivnom istraživanju koje obuhvaća trogodišnje vremensko razdoblje analizirali smo uzorke seruma pacijenata upućenih od strane nadležnih liječnika s područja koji gravitiraju Zavodu za javno zdravstvo Osječko - baranjske županije. Molekularne pretrage učinjene su PCR metodom, korištenjem kvantitativnog testa COBAS®TaqMan® HBV Test.

Rezultati: Na odjelu za molekularnu dijagnostiku Službe za mikrobiologiju, u trogodišnjem razdoblju na prisustvo virusne DNA ispitano je 577 uzoraka krvi. Evidentan je porast broja ispitivanih uzoraka iz godine u godinu kao i učestalost pozitivnih rezultata.

Zaključak: Laboratorijska dijagnostika ima važnu ulogu u prevenciji, otkrivanju, liječenju HBV infekcija ali i u praćenju bolesti koja predstavlja javnozdravstveni problem. Kvantitativno određivanje količine HBV DNA u krvi ima sve važniju ulogu u obradi bolesnika s hepatitisom B, osobito u rješavanju dijagnostičkih problema koje nije moguće riješiti serološkim pretragama te u praćenju tijeka protuvirusnog liječenja. Sukladno tomu razumljivo je kako se iz godine u godinu povećava broj uzoraka pristiglih u laboratorij za molekularnu dijagnostiku Službe za mikrobiologiju.

Ključne riječi: HBV, molekularna dijagnostika

# CHLAMYDIA TRACHOMATIS GENITAL INFECTION TO SCREEN OR NOT TO SCREEN?

L. Klausberger[1], S. Zvonar[1], N. Sučić[1], Z. Girotto[1], T. Rukavina[1,2]

[1] Teaching Institute of Public Health Primorsko-goranska County, Department for microbiology
[2]Faculty of Medicine University of Rijeka, *Department of Social Medicine and Epidemiology*

Chlamydia trachomatis is a non-motile, gram – negative, coccoid bacterium that infects columnar and transitional epithelium of urethra, cervix, rectum and some non-genital sites. Genital chlamydial infection is recognized as one of the most common sexually transmitted disease. Beside infections in sexually active adults, it causes also well-known chlamydial infection in infants due to the passing through the infected birth canal. In most cases, genital chlamydial infection is asymptomatic, which consequently helps the increase of incidence among the population. *Chlamydia trachomatis* mainly causes urethritis and cervicitis, but many studies have shown that untreated infection may lead to serious complications such as pelvic inflammatory disease, proctitis, epididymitis, reactive arthritis and poor pregnancy outcome or even infertility. Therefore, an early diagnosis of infection is crucial to prevent the development of those complications for infected, and prevents spreading of *C. trachomatis* among the population. Since the absence of clinical symptoms is very common, infection can only be proven or excluded with laboratory testing. Although, there are various laboratory techniques to detect *C. trachomatis*, it is recommended that molecular techniques should be used. In Laboratory for Molecular Diagnostics, Department of Microbiology of Teaching Institute of Public Health, Primorsko-goranska County during the year 2015, 3446 genital specimens were tested 2793 specimens were sampled from females and 653 specimens were sampled from males. Samples were cervical, vaginal, urethral and rectal swabs, as well as ejaculate, prostatic exprimate and urine. DNA was isolated from samples by automated system (SaMag 24, Sacace, Italy) and diagnosis was confirmed by real time polymerase chain reaction on (RT 7500, Applied Biosistems, USA). Chlamydial infection was detected in 59 samples taken from females and 36 samples taken from males. Even in samples taken from patients who had some inflammatory changes in genital area, incidence and prevalence was proven to be relatively low, which indicates low incidence and prevalence in entire population of our county.

Key words: *Chlamydia trachomatis*, genital infection, polymerase chain reaction, incidence, prevalence

# ZNAČENJE DIREKTNE MIKROSKOPIJE U MIKROBIOLOŠKOJ DIJAGNOSTICI TUBERKULOZE

LJ. Farkaš[1], T. Pastuović[2], S. Martin[1], M. Bagarić[3], S. Cviljević[1]

[1]Opća županijska bolnica Požega, Odjel za kliničku mikrobiologiju, Požega, Hrvatska; [2]ZZJZ Osječko-baranjske županije, Mikrobiološki laboratorij, Osijek, Hrvatska; [3]Opća županijska bolnica Požega, Odjel za transfuzijsku medicinu, Požega, Hrvatska

Uvod: Jedan od najvećih globalnih zdravstvenih problema današnjice jest tuberkuloza koju uzrokuje *Mycobacterium tuberculosis*. Pretpostavlja se da je danas uzročnikom tuberkuloze zaražen svaki treći čovjeku u svijetu, a svaka neliječena osoba oboljela od tuberkuloze zarazi 10 - 15 ljudi u svojoj okolini. Direktna mikroskopija kao najbrža tehnike u mikrobiološkoj dijagnostici tuberkuloze je od velikog značaja u dijagnostici, liječenju i sprječavanju širenja tuberkuloze.

Ciljevi istraživanja: Utvrditi broj pozitivnih mikroskopija u odnosu na pozitivne kultivacije te utvrditi značaj direktne mikroskopije u mikrobiološkoj dijagnostici tuberkuloze i u procjeni kvalitete uzorka.

Ispitanici i metode: U ovom retrospektivnom istraživanju korišteni su podatci iz arhive Odjela za kliničku mikrobiologiju Opće županijske bolnice Požega od 1. siječnja do 31. prosinca 2015. godine. U istraživanje je bilo uključeno 179 ispitanika koji su upućeni na bakteriološku dijagnostiku tuberkuloze te je analizirano 667 kliničkih uzoraka. Za potvrđivanje prisutnosti infekcija tuberkuloze korištene su konvencionalne metode direktne mikroskopske pretrage i kultivacije.

Rezultati: Učestalost infekcije tuberkuloze na području Požeško-slavonske županije iznosila je 7,8 %. Utvrđeno je 7,36 % pozitivnih direktnih mikroskopija te nešto manje, 6,3 % pozitivnih kultivacija u 667 obrađenih kliničkih uzoraka. Istraživanje je pokazalo kako je infekcija češća kod muškaraca nego kod žena.

Zaključak: Utvrđeni udio pozitivnih direktnih mikroskopija u istraživanom području je među višima u Republici Hrvatskoj. Dokazan je veći udio pozitivnih mikroskopskih pretraga u odnosu na pozitivne kultivacije što nije slučaj u ostalim centrima za mikrobiološku dijagnostiku tuberkuloze. Provedenim istraživanjem može se zaključiti da je metoda direktne mikroskopske pretrage može dobro poslužiti za preliminarnu dijagnostiku te je pomoć, a ne zamjena metodi kultivacije koja je trenutno i zasluženo zlatni standard u mikrobiološkoj dijagnostici TBC-a.

Ključne riječi: tuberkuloza; direktna mikroskopija; kultivacija

# RANO OTKRIVANJE PROMJENA GENOMA METODOM INTERFAZNE FLUORESCENTNE IN SITU HIBRIDIZACIJE (I-FISH) U BOLESNIKA SA HEMATURIJOM

Davidović-Mrsić S.[1], Žugčić I.[2,1]

KBC Zagreb, Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku,Odjel za citogenetiku, Zagreb, Hrvatska,[2]KBC Zagreb, Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Odjel za citogenetiku, Zagreb, Hrvatska

Karcinom mokraćnog mjehura jedan je od vodećih karcinoma u muškoj populaciji. Oko 90 000 slučajeva godišnje dijagnosticira se u Europi i 260 000 u svijetu. Visoko osjetljivim, specifičnim i ne invazivnim metodama molekularne biologije kao što je interfazni FISH ( I - FISH ) moguće je detektirati promjene genoma u stanicama sedimenta urina te tako razlikovati malignu atipiju stanica od benigne atipije.

Cilj je bio ispitati i dokazati prisutnost promjena genoma u atipičnim stanicama sedimenta urina. Metodom I - FISH detektirane su numeričke i strukturne promjene ( CEP3, CEP7, CEP 17 i LSI 9p21) u uzorcima urina s dokazanom staničnom atipijom. UroVysion test omogućava istovremeno otkrivanje više različitih promjena u genomu jedne atipične stanice.

Metodom interfazne florescentne in situ hibridizacije ( I-FISH ) mogu se dokazati promjene broja kromosoma 3, 7, i 17 ( trisomije, tetrasmoije...) i nedostatak tumorsupresora (p16) na kratkom kraku kromosoma 9 u području p21. Da bi test bio pozitivan moramo imati 6 ili više stanica sa aneuploidijama kromosoma 3, 7, i 17, te 6 stanica sa delecijom jednog ili oba p kraka kromosma 9. Broj analiziranih stanica mora biti ≥25.

Analizirano je 270 uzoraka urina u bolesnika kod kojih je bila prisutna stanična atipija. Pozitivan nalaz na en je u 113 ( 42%) bolesnika. U 24 (21%) bolesnika bile su prisutne numeričke i strukturne promjene, u 83 (74%) samo numeričke, a u 6 (5%) samo strukturne promjene.

Zaključak: Tehnikom I - FISH moguće je detektirati i pratiti poznate nam promjene genoma u stanicama tumora mokraćnog mjehura i na taj način razlikovati benignu od maligne stanične atipije.

Ključne riječi: karcinom mokraćnog mjehura, I-FISH, urovysion test

# ULOGA POLIMORFIZAMA GENA *BIRC5* U KARCINOMIMA PLOČASTOG EPITELA USNE ŠUPLJINE I OROFARINKSA

M. Gregorić[1], V. Musani[2], P. Ozretić[2], M. Levačić Cvok[2], D. Leović[3], M. Čonda[2], S. Levanat[2]

[1]Zdravstveno učilište, [2]Institut Ruđer Bošković, Zavod za molekularnu medicinu, Laboratorij za nasljedni rak, [3] Odjel za maksilofacijalnu kirurgiju, Klinika za otorinolaringologiju i kirurgiju glave i vrata, KBC Osijek

UVOD
Za istraživanje tumorskih oboljenja, protein survivin zanimljiv je zbog svoje uloge u procesu inhibicije apoptoze (programirane stanične smrti) jer se njegova prekomjerna aktivnost može povezati s nastankom tumora, povratkom bolesti i lošijim preživljenjem bolesnika.
Survivin je kodiran genom *BIRC5* (engl. *baculoviral IAP repeat containing 5*). To je protein koji spada u inhibitore apoptoze (engl. *inhibitors of apoptosis, IAP*). Survivin je eksprimiran tijekom embrionalnog razvoja, dok u diferenciranim tkivima odraslih organizama nije. Do sada proučavani polimorfizmi gena *BIRC5*, koji se nalaze u promotorskoj regiji gena, eksonu 4 te 3'UTR regiji (engl. *untranslated region*), povezani su s promjenama u ekspresiji, stabilnosti te lokalizaciji survivina, što sve utječe na pojavu tumora.
CILJ ISTRAŽIVANJA
Ovim radom istražena je uloga polimorfizama gena *BIRC5* u karcinomima pločastog epitela usne šupljine i orofarinksa. Izabrano je osam polimorfizama koji su analizirani: četiri u promotoru, jedan u eksonu 4 te tri u 3' UTR regiji.
METODE
Početnice za pet PCR produkata dizajnirane su tako da obuhvaćaju navedene polimorfizme. U radu je analizirano 38 uzoraka pacijenata s karcinomom usne šupljine i orofarinksa i 74 uzorka zdravih kontrolnih ispitanika. Genska analiza uzoraka provedena je metodom analize krivulje mekšanja i sekvenciranjem po Sangeru.
REZULTATI
Rezultati su ukazali na različit značaj pojedinih polimorfizama gena *BIRC5*. Promotorski polimorfizam c.-235G>A značajno je zastupljeniji kod pacijenata u odnosu na kontrolne uzorke. Kod nositelja heterozigotnog genotipa c.-235GA utvr en je 6,75 puta veći rizik od obolijevanja od karcinoma usne šupljine i orofarinksa. Kod polimorfizama c.-644T>C i c.-625G>C nositelji rje eg homozigotnog genotipa značajno su povezani s višim Broders stupnjem tumora (slabijom diferencijacijom), kao i nositelji rjeđeg alela polimorfizma c.-235G>A. Nositelji rjeđeg homozigotnog genotipa polimorfizama c.9194G>A i c.9809T>C povezani su s tumorima višeg TNM stupnja. Viša ekspresija survivina na razini mRNA povezana je s prisutnosti rjeđeg alela kod polimorfizama c.-644T>C i c.-625G>C. Osim osam čestih polimorfizama, pronađeno je i šest rijetkih, od kojih je jedan, c.9349G>C pronađen u 3' UTR regiji, dosad neobjavljen.
ZAKLJUČAK
Ovim istraživanjem utvrđena je povezanost određenih polimorfizama gena *BIRC5* s razinom ekspresije survivina te rizikom od pojave karcinoma pločastog epitela usne šupljine i orofarinksa. Povećana ekspresija survivina povezuje se s povećanom otpornosti na kemoterapiju i zračenje, ali i lošijim preživljenjem. Stoga, polimorfizmi gena *BIRC5* mogli bi se koristiti kao prediktivni i prognostički biomarkeri u etiologiji karcinoma pločastog epitela glave i vrata.

Ključne riječi: survivin; gen *BIRC5*; polimorfizmi; karcinom pločastih stanica usne šupljine i orofarinksa

# PRIMJENA FLUORESCENTNE *IN SITU* HIBRIDIZACIJE U OTKRIVANJU MIKRODELECIJSKIH SINDROMA

M. Florijančić[1], V. Šerić[1], S. Štibi[2], I. Škrlec[2], M. Hefer2, J. Wagner[2]

FISH (fluorescentna *in situ* hibridizacija) je metoda molekularne citogenetike koja objedinjuje prednosti citogenetičkih i molekularnih metoda ispitivanja, a osniva se na hibridizaciji komplementarnih sekvenci nukleinskih kiselina. Za razliku od konvencionalne citogenetike i molekularnih metoda, FISH je jedina tehnika koja omogućava korelaciju između genetske promjene i morfologije stanica. S vremenom su razvijene modernije tehnike za analizu kromosoma poput MLPA, CGH i CMA, no FISH se i dalje zbog svoje specifičnosti koristi kao konačna potvrda rezultata dobivenih navedenim tehnikama. Mikrodelecijski sindromi su urođeni sindromi koji se najčešće otkrivaju u pedijatrijskoj dobi, no zbog varijabilnog fenotipa otkriju se ponekad kasnije tijekom života. Uzrokovani su mikroskopskim delecijama na specifičnim regijama humanih kromosoma i u pravilu nisu vidljivi morfološkom analizom pomoću svjetlosnog mikroskopa. Cilj rada bio je ispitati mogućnosti FISH-a u dokazivanju mikrodelecijskih sindroma. Analizirano je 10 uzoraka periferne krvi pacijenata s uputnim dijagnozama: 22q11 mikrodelecijski sindrom, Wolf-Hirschorn sindrom, Cri-du-Chat sindrom, Prader-Willi sindrom i Angelman sindrom. Primjenom klasičnih i molekularnih citogenetičkih tehnike, G-pruganje i FISH, utvrđeni su kariotipovi. Spomenute metode se međusobno korisno nadopunjuju i omogućuju precizniji uvid u poremećaje genoma bolesnika s mikrodelecijskim sindromom te bi trebale biti dostupne i izvedive u svakom medicinsko-genetičkom laboratoriju. FISH tehnika adekvatna je i optimalna metoda za dokazivanje većine mikrodelecijskih sindroma.

Ključne riječi: FISH, mikrodelecijski sindrom

# MOLEKULARNA DIJAGNOSTIKA MIOTONIČNE DISTROFIJE TIPA 2

S.Škaro, K.Petrović, A. Acman Barišić, D.Caban, A.Merkler, H.Ljubić

Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Klinički bolnički centar Zagreb

UVOD: Miotonična distrofija tipa 2 (MD2) je autosomno dominantna bolest karakterizirana miotonijom i mišićnom disfunkcijom. Rezultat je povećanog broja ponavljanja tetrapleta CCTG u genu *CNBP* (tj. *ZNF9*). MD2 oboljeli imaju od 75 do više od 11 000 CCTG ponavljanja. Tetraplet CCTG koji je ekspandiran kod oboljelih od MD2 nalazi se u intronu 1 gena *CNBP* i transkribira se u RNA, ali se ne translatira u protein. Mutirani gen *CNBP* proizvodi promjenjeni oblik mRNA koji uzrokuje interefenciju proizvodnje mnogih drugih proteina što sprječava mišićne stanice i stanice drugih tkiva da normalno funkcioniraju, a to vodi do slabosti mišića i drugih karakteristika MD2.

CILJ: Cilj rada je bio genotipizirati bolesnike sa sumnjom na MD2 koji su upućeni na DNA analizu zbog kliničkih simptoma bolesti odnosno pozitivne obiteljske anamneze.

METODE: U razdoblju od 2004. do 2016. godine ispitano je 512 uzoraka genomske DNA bolesnika. Korištena je metoda PCR za utvrđivanje alela u normalnom rasponu te metoda hibridizacije po Southernu sa probom obilježenom digoksigeninom za utvrđivanje ekspandiranih alela.

REZULTATI: Analizom 512 uzoraka, utvrđen je povećan broj tetrapleta u njih 88 (17,2%). Novija istraživanja i bolje razumijevanje modela složenih korelacija genotipa i fenotipa dovelo je do povećanja broja pozitivnih rezultata u posljednjih nekoliko godina.

ZAKLJUČAK: DNA analiza tetrapleta CCTG u genu *CNBP* pomaže razumijevanju genetičkog mehanizma bolesti i postavljanju molekularne dijagnoze MD2.

Ključne riječi: Miotonična distrofija tipa 2, gen *CNBP*, tetrapleti CCTG

# VALIDACIJA UREĐAJA ZA MJERENJE OSTATNIH LEUKOCITA U FILTRIRANIM KRVNIM PRIPRAVCIMA- ADAM rWBC Counting System

A. Grdić, J. Gulan Harcet, B. Božić, M. Salečić, D. Đurić

Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu, Zagreb, Hrvatska

Uvod: Za određivanje ostatnih leukocita u krvnim pripravcima sa smanjenim brojem leukocita te plazmi, na raspolaganju su brojne metode. Kada je broj leukocita ispod granice od 100-500 leukocita /µl, hematološki brojači ne osiguravaju pouzdan rezultat. U Odjelu za kontrolu kvalitete Nageotte-komorica se rutinski koristila za određivanje broja ostatnih leukocita u filtriranim krvnim pripravcima i plazmi. Naša iskustva i iskustva drugih korisnika upućivala su na niz nedostataka kao što su potreba za liziranjem eritrocita i dilucijom uzorka čime se povećava mogućnost dobivanja nepouzdanih rezultata, nestandardiziranost postupaka, subjektivnost pri mikroskopiranju.

Cilj: Zbog navedenih nedostataka brojanja leukocita u Nageotte-komorici, razmatrala se mogućnost zamjene ove metode automatiziranom i standardiziranom metodom. Metoda protočne citometrije u širokoj je primjeni u razvijenim zemljama, ali zbog visoke cijene uređaja i potrebe za usko specijaliziranim djelatnicima trenutno nije etablirana u HZTM. Mogućnost korištenja uređaja koji radi na principu protočne citometrije, ali uz jednostavno korištenje i manju nabavnu cijenu činila se kao prihvatljiva alternativa.

Metode: Adam rWBC radi na principu protočne citometrije i boji jezgre leukocita koje su prethodno obojane propijum jodidom. Fluorescencija se detektira snimanjem CCD kamerom koja napravi 203 slike uzorka koji se analizira. Software koji je sastavni dio uređaja analizira rezultate i prikazuje rezultat izražen kao broj leukocita po mikrolitru.
Tijekom validacijskog postupka paralelno su u uzorcima krvnih pripravaka određivani ostatni leukociti na uređaju Adam rWBC i u Nageotte-komorici.
U validacijskom postupku ispitana su 94 krvna pripravka: 7 uzoraka koncentrata eritrocita sa smanjenim brojem leukocita, 39 uzoraka koncentrata eritrocita bez sloja leukocita i trombocita sa smanjenim brojem leukocita u hranjivoj otopini, 22 uzorka koncentrata trombocita sa smanjenim brojem leukocita, 26 uzoraka svježe smrznute plazme.

Zaključak: Provedena je validacija uređaja Adam rWBC za mjerenje ostatnih leukocita u filtriranim koncentratima eritrocita i trombocita te plazmi.
Validacijom u KKM potvrđena je linearnost mjerenja ostatnih leukocita u rasponu od 1 do 25 leukocita po mikrolitru za koncentrate eritrocita kao i za koncentrate trombocita. Proizvođač specificira linearnost u rasponu od 0,1 do 100 leukocita po mikrolitru.
Uz izuzetak dvije vrijednosti mjerenja koje su izuzete iz statističkogizračuna gdje su dobivene lažno visoke vrijednosti broja leukocita, metoda se može ocijeniti preciznom i linearnom uz zadovoljavajući limit detekcije. Metoda je stoga prihvatljiva alternativa određivanju ostatnih leukocita u Nageotte-komorici.

Ključne riječi: ostatni leukociti, Adam rWBC

# MOLEKULARNA DIJAGNOSTIKA VIRUSA - HITNO I VRLO HITNO TESTIRANJE

A.Vukičević[1], M. Boban[1], R. Kundid[1], V. Kirin[1], M. Iveljić[1], L .Jadrešić[1], J. Valentić[1], I. Ćuruvija[1], M. Marković[1], I. Babić[1], V. Đogić[1], J. Bingulac-Popović[1]

[1]Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu, Odjel za molekularnu dijagnostiku, Petrova 3, Zagreb, Hrvatska

UVOD: Na Odjelu molekularne dijagnostike (OMD) Hrvatskog zavoda za transfuzijsku medicinu (HZTM), osim redovnog testiranja liječnici i kliničari mogu zatražiti hitno ili vrlo hitno testiranje za slijedeće molekularne pretrage: HCV-RNA, HBV-DNA, HIV1-RNA, CMV-DNA i EBV-DNA.

CILJ STUDIJE: Analizirati zahtjeve za hitnim i vrlo hitnim testiranjima u OMD te uspješnost njihovog izvođenja u 2014. i 2015. godini.

METODE: Titar HCV-RNA, HBV-DNA, HIV1-RNA određuje se potpuno automatiziranim sustavom COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan (Roche Diagnostics, Njemačka). Titar CMV-DNA i EBV-DNA, određuje se Artus® CMV RG PCR kitom i Artus EBV RG PCR kitom, na uređaju Rotor-Gene Q (QIAGEN, Njemačka). Kvantitativno određivanje odnosno detekcija svih pet navedenih virusa bazira se na real-time PCR tehnologiji. Nalazi hitnog testiranja izdaju se unutar 48h radnim danom, a nalazi vrlo hitnog testiranja unutar 8h nakon zaprimanja uzorka neovisno o radnom vremenu. Za hitno i vrlo hitno testiranje educirano je i uključeno 9 djelatnika OMD koje je u stalnoj izobrazbi. Rad OMD odjela organiziran je u dvije smjene. Izvan radnog vremena, vikendom, te praznicima, vrlo hitno testiranje preuzima po pozivu djelatnik OMD u pripravnosti. Vode se zapisi o telefonskim komunikacijama vezano uz zahtjeve za hitno/vrlo hitno testiranje sa detaljnim podacima o podnositelju zahtjeva te kontakt telefonu ili broj faksa na koji šaljemo nalaz.

REZULTATI: Analizom podataka utvrdili smo da je 10% zahtjeva za titar CMV-DNA i 9% za EBV-DNA bilo hitno i vrlo hitno testiranje, dok je na to testiranje otpalo tek 2% zahtjeva za HBV-DNA i 3% za HCV-RNA. Primjećuje se dvostruko veći udio zahtjeva za vrlo hitnim testiranje CMV-DNA u 2015. g, te blagi porast broja zahtjeva hitnog testiranja HCV-RNA. Uvidom u naručitelje pretraga najveći dio zahtjeva za hitnim i vrlo hitnim testiranjem CMV-DNA i EBV-DNA odnosi se na praćenje bolesnika KB Merkur koji su na imunosupresivnoj terapiji nakon transplantacije. Najveći broj zahtjeva za hitnim testiranjem HCV-RNA vezan je uz praćenje rezultata trojne terapije protiv virusa hepatitisa C. Tijekom 2014. i 2015. g provedeno su 254 zahtjeva za hitnim i vrlo hitnim testiranjem. Svi rezultati izdani su unutar zadanog vremenskog okvira.

ZAKLJUČAK: Uz visok stupanj automatizacije na odjelu, kvalitetna i trajna izobrazba djelatnika, dobra suradnja i komunikacija s korisnicima naših usluga, te dobra organizacija radnih procesa unutar odjela, važan je preduvjet za pravovremeno izdavanje hitnih i vrlo hitnih nalaza koji pridonose kvaliteti i sigurnosti liječenja bolesnika.

KLJUČNE RIJEČI: molekularna dijagnostika, hitno i vrlo hitno testiranje

# UČESTALOST GENA I I HAPLOTIPOVA HLA-A-B-DRB1 U JEDINICAMA UMBILIKALNE KRVI I NJIHOVIH MAJKI

Člekovic Danijela[1], Burek Kamenarić Marija[1], Maskalan Marija[1], Grubić Zorana[1], Branka Golubić Ćepulić[2], Mazić Sanja[2], Žunec Renata[1]

[1]Odjel za tipizaciju tkiva, [2] Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju, KBC Zagreb, Hrvatska

UVOD
Krv iz pupkovine je široko rasprostranjen izvor krvotvornih matičnih stanica (KMS) koje se primjenjuju u liječenju različitih hematoloških bolesti transplantacijom. U svijetu je do danas registrirano 687 077 jedinica umbilikalne krvi (engl. *cord blood unit, CBU*) uključenih u rad svjetske mreže BMDW (engl. *Bone Marrow Donors Worldwide*). Hrvatska banka krvi iz pupkovine Ana Rukavina s 3136 CBU također je član BMDW-a.
CILJ
Istražiti učestalost gena HLA-A,-B, i -DRB1 i raznolikost haplotipova u skupini od 200 CBU i njihovih majki.
METODA
Geni HLA-A, -B i -DRB1 određeni su PCR-SSO metodom niskog razlučivanja (metoda Luminex). Parovi CBU-majka odabrani su nasumce. Učestalost gena HLA određena je direktnim brojanjem, kao i učestalost haplotipova HLA-A-B-DRB1. Haplotipovi HLA određeni su segregacijom tj. usporedbom gena HLA CBU i majke.
REZULTAT
Analizom učestalosti gena HLA uočeno je 15 različitih gena lokusa HLA-A, od kojih su četiri najčešća bila: A*02 (30,3%), A*03 (13,0%), A*24 (12,0%) i A*01 (10,3%). Na lokusu HLA-B određeno je ukupno 27 različitih gena HLA od kojih je najčešći bio B*35 (14,8%), zatim B*51 (12,5%), B*44 (12,3%) te B*08 (7,5%). Na lokusu HLA-DRB1 određeno je ukupno 13 različitih gena od kojih je najčešći bio DRB1*11 (16,5%), slijede ga RB1*07 (12,0%), DRB1*04 (11,3%) te DRB1*01 i DRB1*16 s učestalošću od 10,5%.
Segregacijska analiza haplotipova HLA-A-B-DRB1 unutar ispitivane skupine bila je moguća kod 164 (82.0%) parova CBU-majka. Naime, u 36 (18.0%) parova CBU-majka nije bilo moguće odrediti naslijeđeni majčin gen HLA jer su CBU i majka dijelili oba gena HLA na jednom ili više lokusa HLA. Unutar analiziranih haplotipova HLA (N=328) otkriveno je 216 različitih, od kojih se 165 (76,4%) haplotipova HLA pojavilo samo jedan put. Najčešći haplotip bio je HLA-A*01- B*08-DRB1*03 s frekvencijom od 5,5%, a slijedili su ga haplotipovi: HLA-A*23-B*44- DRB1*07 (2,1%) i HLA-A*02-B*44-DRB1*04 (1,8%).
ZAKLJUČAK
Učestalost gena i haplotipova HLA u analiziranoj skupini parova CBU-majka u skladu je s učestalostima gena i haplotipova HLA u hrvatskoj populaciji. Rezultati pokazuju genetsku raznolikost naše populacije i mogu se koristiti u daljnjim populacijskim istraživanjima.

KLJUČNE RIJEČI: HLA, haplotipovi, umbilikalna krv

# ŠTO ĆE NAM NOVO DONIJETI REVIZIJA DIREKTIVE ZA IN VITRO DIJAGNOSTIKE I MEDICINSKE PROIZVODE 98/79/EC

M.Malešević[1], N.Krešo[1], Đ.Horvat[1], K Hranj[1], V. Perović[1], A. Hećimović[1]

[1]Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu, Odjel za pripravu testnih reagencija

UVOD
Odlukom o ujedinjenju Europe u jedinstveno tržište postavljeni su temelji za slobodnu razmjenu roba, usluga, kapitala i osoba. Cilj ujedinjenja je stvaranje jedinstvenog tržišta uz zaštitu osnovnih vrijednosti života, zdravlja i okoliša. Stoga je bilo potrebno eliminirati stara i spriječiti nova ograničenja u trgovanju, osigurati me usobno priznavanje tehničkih regulativa i provesti tehničku harmonizaciju. U skladu s tim osmišljeni su novi zakonodavni koncepti (Direktive), koje određuju temeljne tehničke zahtjeve za proizvode. Cilj svih Direktiva je da konkretan proizvod bude izrađen u skladu s temeljnim zahtjevima i da se može koristiti bilo gdje u EU bez da država u kojoj se koristi postavlja dodatne uvjete. 98/79/EC Direktiva za in vitro dijagnostike i medicinske proizvode ili IVD Direktiva je važan zakonski akt za medicinsku djelatnost. Trenutno važeća verzija donešena je 1998. godine. Dugi vremenski period od izdavanja IVD Direktive te značajan tehnološki i stručni napredak u tom interval zahtjeva njenu reviziju. Za Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu (HZTM) nova IVD Direktiva donijet će bitne promjene vezane za „in house“ proizvodnju in vitro dijagnostika za imunohematološka ispitivanja. Do sada je ta proizvodnja, zbog načela supsidijarnosti, bila isključena iz IVD Direktive. Nova IVD Direktiva donijet će i novu klasifikaciju in vitro dijagnostika prema riziku te sukladno tome definirat će se proizvodi koji moraju nositi CE oznaku odnosno potvrdu tzv. nezavisnog tijela (*Notify body*) da su proizvedeni u skladu s Direktivom. U skupinu reagensa koji će morati nositi CE oznaku, a koji se proizvode u HZTM, su reagensi za određivanje krvnih grupa.
CILJ
Prikazati poduzete aktivnosti na Odjelu za pripravu testnih reagencija radi usklađivanja s novom Direktivom.
METODE
Proizvodnja in vitro dijagnostika za imunohematološka ispitivanja u HZTM provodila se do listopada 2015. godine unutar sustava kvalitete ISO 9001, a nakon toga i unutar sustava kvalitete ISO 13485 Sustav upravljanja kvalitetom-Medicinski proizvodi. Ovaj standard zahtjeva primjenu i drugih tzv. horizontalnih standarda: Commission Decision 2002/364/EC Tehničke specifikacije dijagnostičkih in vitro reagensa, HRN EN ISO 23640 Procjena stabilnosti dijagnostičkih in vitro reagensa, HRN EN 13612 Ispitivanje in vitro dijagnostika, HRN EN 13641 Uklanjanje ili smanjenje rizika od infekcije HRN EN ISO 14971 Medical Devices Primjena upravljanja rizikom za medicinske proizvode.
REZULTATI
Odjel za pripravu testnih reagencija certificiran je početkom 2016. godine prema normi ISO 13485.
ZAKLJUČAK
Potvrda rada prema normi ISO 13485 je važan preduvjet za pozivanje ovlaštenog nezavisnog tijela, koji će potvrditi uskla enost proizvodnje in vitro dijagnostika visokog rizika s Direktivom te dati dozvolu za označavanje proizvoda CE oznakom, kao dokaz tome.

KLJUČNE RIJEČI: „In house“ proizvodnja, Direktiva za in vitro dijagnostike i medicinske proizvode, „CE“ oznaka

# PROIZVODNJA UNIVERZALNOG KRIOPRECIPITATA U HZTM (2000 - 2015) - ČIMBENICI KOJI SU NA TO UTJECALI

M. Semijalac, N. Vučković, S. Stanešić, M. Liker, M. Strauss Patko

Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu, Odjel za krvne pripravake, Zagreb

UVOD: Krioprecipitat je pripravak koji sadrži koncentrat faktora VIII, von Willebrandov faktor, fibrinogen i faktor XIII. Cilj ispitivanja je prikazati kretanje proizvodnje pripravka univerzalnog krioprecipitata u HZTM u razdoblju od 2000. do 2015. godine i čimbenike koji su na to utjecali.

METODE: Retrospektivno su za razdoblje od 2000. do 2015. analizirani podaci o proizvodnji univerzalnog krioprecipitata u HZTM.

REZULTATI: U promatranom razdoblju tri su glavna čimbenika utjecala na proizvodnju univerzalnog krioprecipitata u HZTM: povećanje broja transplatacija jetre u KB Merkur, početak reorganizacije transfuzijske službe u Hrvatskoj 2008. godine i prestanak proizvodnje liofiliziranog krioprecipitata u Imunološkom zavodu 2013. godine. U razdoblju od 2000. do 2006. godišnja proizvodnja iznosila je prosječno 142 pripravka univerzalnog krioprecipitata. Povećanjem broja transplatacija jetre u KB Merkur i preuzimanjem osam transfuzijskih centara od strane HZTM-a godišnji prosjek raste na 298 pripravka univerzalna krioprecipitata, 210 % više nego u prethodnom periodu. Značajan porast i pojavu novih korisnika bilježi se od 2014. godine na dalje uslijed prestanka proizvodnje liofiliziranog krioprecipitata u Imunološkom zavodu. Tako je u razdoblju od 2014. do 2015 godišnji prosjek iznosio 846 pripravaka univerzalna krioprecipitata, što je u odnosu na prvo promatrano razdoblje porast od 596 %. U tom razdoblju novi korisnici sudjeluju sa više od 50 % izdanih univerzalnih krioprecipitata.

ZAKLJUČAK: Reorganizacija transfuzijske službe i povećanje broja transplantacija jetre u KB Merkur, a osobito prestanak proizvodnje liofiliziranog krioprecipitata doveli su povećanja proizvodnje univerzalnog krioprecipitata za 596 %. S obzirom na složenost i trajanje samog postupka proizvodnje univerzalnog krioprecipita to je zahtijevalo reorganizaciju rada i povećanje produktivnosti postojećih ljudskih resursa.

Ključne riječi: krioprecipitat, proizvodnja, transplantacija

# PROIZVODNJA I ZADOVOLJENJE POTREBA ZA LIJEČENJEM KONCENTRATIMA TROMBOCITA

N.Vučković, M.Semijalac,S.Stanešić, M.Liker

Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu, Zagreb

Uvod: Koncentrati Trombocita (KT) su krvni pripravci za prevenciju i /ili liječenje krvarenja u trombocitopeničnih bolesnika. Proizvode se samo u ovlaštenim transfuzijskim centrima u RH.

Cilj: Prikazati uspješnost praćenja zahtjeva i isporuke KT u HZTM za liječenje bolesnika na području RH obuhvaćenim reorganizacijom transfuzijske službe.

Metode: U HZTM se KT proizvode na dva načina: na staničnom separatoru od jednog davatelja (trombafereza) i iz pune krvi (PK). Dnevno se prosječno proizvede 70 pulova KT i 12 pojedinačnih afereza. Obrađeni su podaci iz nacionalnog informatičkog sustava za transfuzijsku djelatnost u RH za period od 2012. do 2015. godine.

Rezultati: Uvođenjem nacionalnog kompjutorskog programa (e-Delphyn) praćenje proizvodnje i realizacije postaje puno jednostavnije i svakodnevno imamo podatak o zadovoljenju zahtjeva. Iz podataka je vidljivo da je u 2012. zatraženo 16227 doza, a isporučeno je 13784 doza. U 2013. godini zatraženo 18061 doza, a izdano je 15303 doza . U 2014. zatraženo 18 271 doza, a izdano 15435 doza. U 2015. zatraženo 19759 doza, izdano 16968 doza. Iako smo u 2014. godini uveli sustav hladnih ploča za čuvanje i transport krvi s ciljem povećanja proizvodnje KT i dalje je zadovoljenje 85 %. što ukazuje na znatno povećanje potreba za KT.

Zaključak: Iz dobivenih podataka vidljivo je da su zahtjevi za KT usprkos povećanoj proizvodnji zadovoljeni 85 %. U prva tri mjeseca 2016. nema vidljivih pomaka u postotku zadovoljenja zahtjeva što nam jasno govori da moramo nešto mijenjati. Promjena načina proizvodnje počinje već 02.05.2016. i s najavljenom promjenom očekujemo bolje zadovoljenje zahtjeva za K.T.

Ključne riječi: koncentrati trombocita, e-Delphyn

# OCJENA RADA DJELATNIKA ODJELA ZA ERITROCITNU DIJAGNOSTIKU HRVATSKOG ZAVODA ZA TRANSFUZIJSKU MEDICINU KROZ ANALIZU „TURN AROUND TIME“ POJEDINIH PRETRAGA

N. Peharec[1], N. Juraković- Lončar[1], Z. Kruhonja Galić[1], V. Matuš[1], M. Martinić[1], N. Ivošević[1], K. Mostarac[1], R. Toljan[1], S. Jagnjić[1]

[1]Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu, Zagreb, Hrvatska

UVOD

U Odjelu za eritrocitnu dijagnostiku (OED) Hrvatskog zavoda za transfuzijsku medicinu kvaliteta rada se prati i analizira kroz veliki broj indikatora. Jedan od njih je i periodična analiza „*turn around time*“ ili TAT-a. To je vrijeme potrebno da se napravi traženo testiranje a mjeri se od trenutka primitka uzorka pacijenta u OED do točnog vremena kad je ispisan nalaz sa rezultatima. TAT utječe na vrijeme koje je kliničaru potrebno za postavljanje dijagnoze, donošenje odluke o uvođenju terapije te posredno i na duljinu boravka u ambulantama hitne pomoći, dnevnim bolnicama te na odjelima.

CILJ STUDIJE:

Analiza „*turn around time*“ kao indikatora kvalitete rada OED-a ali i svih djelatnika pojedinačno koji sudjeluju u procesu rada.

METODE

Za period od 01.01.2015. do 01.08.2015. provedena je analiza TAT-a za ultrahitno (izdavanje nalaza unutar 2 sata od primitka uzorka) i hitno (izdavanje nalaza unutar 24 sata od primitka uzorka) određivanje ABO i RhD krvne grupe i indirektnog antiglobulinskog testa (IAT). Osim analize TAT-a pratili smo i koji su djelatnici bili uključeni u testiranje navedene pretrage.

REZULTATI

U radu je sudjelovalo 11 djelatnika. Od ukupno 119 zahtjeva za određivanjem hitne ili ultrahitne pretrage ABO i RhD krvne grupe i IAT-a u 41 zahtjevu se tražila ultrahitna a u 78 hitna pretraga. Analiziran je TAT kod svih 119 zahtjeva i svi zahtjevi zadovoljili propisani vremenski rok koji je potreban da se izvrši testiranje navedene pretrage.

ZAKLJUČAK

Potrebno je pratiti kvalitetu rada odjela kroz razne aktivnosti. Ocjena TAT-a je jedan od načina. Svi djelatnici OED-a su obavili testiranje u zadanom vremenskom roku, pokazali izvrsnost u radu i pridonijeli kvalitetnijem transfuzijskom liječenju pacijenata.

Ključne riječi: TAT, „*turn around time*“, indikatori kvalitete

# PROVEDBA KOREKTIVNIH MJERA U TRANSFUZIJSKOJ DJELATNOSTI HZTM 2013-2015

R. Antolović , T. Vuk, K. M. Radovčić, J. Ljubičić, L. Lekić, H. Benc

Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu, Zagreb, Hrvatska

**Uvod**: Popravna (korektivna) mjera (KM) je svaka poduzeta aktivnost usmjerena na otklanjanje uzroka utvrđene nesukladnosti. Zaštitna (preventivna) radnja je svaka poduzeta aktivnost usmjerena na sprječavanje nastajanja mogućih nesukladnosti. Prije pokretanja KM potrebno je analizirati korijenski uzrok nastanka nesukladnosti/odstupanja, a nakon pokretanja potrebno je njihovo praćenje učestalosti i trendova, provjera izvršenja i djelotvornosti.

**Cilj**: Cilj rada bila je ukupna analiza KM koje su od strane Osiguranja kvalitete u transfuzijskoj medicini HZTM pokrenute temeljem zaprimljenih nesukladnosti, opravdanih reklamacija kupaca/korisnika te praćenja kvalitete proizvoda/usluga. KM koje se poduzimaju temeljem unutrašnjih prosudbi nisu obuhvaćene ovom analizom.

**Metode**: U izradi rada korišteni su ukupni zapisi o korektivnim mjerama. Ovi zapisi analizirani su obzirom na učestalost, vrstu i učinkovitost provedbe KM.

**Rezultati**: U Osiguranju kvalitete transfuzijske djelatnosti HZTM u periodu od 3 godine (2013 - 2015) ukupno je pokrenuto 59 korektivnih mjera, od čega je u trenutku pisanja ovog rada zaključeno njih 52 ili 88,1%, a 7 (11,9%) je još u postupku rješavanja. Od 52 provedene KM, njih 9 (17,3%) nalazi se u razdoblju praćenja učinkovitosti. Od 43 (82,7%) KM koje su zaključene (uključujući i praćenje učinkovitosti), njih 42 (97,7%) ocijenjeno je učinkovitima. Samo 1 (2,3%) KM ocijenjena je neučinkovitom i sukladno tome pokrenuta je nova. Najviše KM (31/59 ili 52,5%) pokrenuto je u području aktivnosti uzimanja krvi dobrovoljnim davateljima, a po učestalosti slijede proizvodnja krvnih pripravaka (9 ili 15,3%), skladištenje (4 ili 6,8%), testiranje davatelja (4 ili 6,8%), promidžba (3 ili 5,1%), izdavanje krvnih pripravaka (1 ili 1,7%), dok je 7 KM (11,9%) klasificirano kao „Ostalo“.
Od 59 pokrenutih KM, njih 33 (55,9%) zaključeno je u roku, 19 (32,2%) je zaključeno van zadanog roka, dok je 7 KM još u postupku.

**Zaključak**: Pokretanje i provedba KM sastavni su dio implementiranog sustava kvalitete u HZTM. Rezultati analize za period od 3 godine upućuju na zaključak kako provedba KM u HZTM ima pozitivan učinak na unapređenje kvalitete proizvoda i usluga. Od pozitivnih aspekata treba naglasiti visoki udio učinkovitosti provedenih mjera. Jedno od ključnih mjesta za poboljšanje je provedba KM unutar zadanog roka. Potrebno je analizirati moguće uzroke kašnjenja u provedbi dijela KM. Prije svega treba procijeniti koliko su zadani rokovi realni i ostvarivi te sukladno tome mijenjati praksu.

**Ključne riječi**: korektivne mjere, transfuzijska djelatnost, nesukladnosti/odstupanja, učinkovitost

# AUTOMATIZACIJA IMUNOHEMATOLOŠKOG TESTIRANJA DOBROVOLJNIH DAVATELJA KRVI

T.Perković ,T. Brozinčević, T.Kereta , R.Medved, M.Stojić Vidović , M.Strauss Patko

Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu, Petrova 3, Zagreb tanjaperki@gmail.com

Uvod: Na Odjelu za testiranje davatelja krvi dio procesa imunohematološkog testiranja je iz poluautomatskog zamijenjen automatskim od siječnja 2015. godine s ciljem minimaliziranja utjecaja ljudskog faktora na rezultate i skraćenja vremena testiranja. Testiranje se ranije provodilo na poluautomatskom sustavu Tecan-Genesis-Medusa, a zamijenjeno je zatvorenim automatskim sustavima PK 7300 i NEO Galileo. Na ovim sustavima odre uju se ABO i RhD krvne grupe, Rh fenotip i Kell antigen dobrovoljnim davateljima krvi. Imunohematološko testiranje se provodi u mikrotitarskim pločama na principu hemaglutinacijske reakcije. Iz ove analize je isključeno testiranje indirektnog antiglobulinskog testa koji se već od 2008 izvodi na automatiziranom sustavu.

Cilj rada: Cilj rada je procjena učinkovitosti izvođenja imunohematoloških testova na potpuno automatiziranim sustavima PK 7300 i NEO Galileo u odnosu na poluautomatizirani sustav Tecan-Genesis-Medusa.

Metode: Analizirane su karakteristike rada na dosadašnjem poluautomatskom sustavu Tecan Genesis Medusa, kao i usporedba s novim automatskim sustavima testiranja PK 7300 i NEO Galileo.

Rezultati:
Ukupno trajanje testiranja na poluautomatskom sustavu Tecan-Genesis-Medusa za 336 uzoraka krvi iznosi 7,5 sati. Ukupno vrijeme testiranja na automatiziranim sustavima PK 7300 i Neo Galileo za 382 uzorka krvi iznosi 4 sata I 10 minuta. Prosječno vrijeme rada tehničara na ovakvoj seriji uzoraka na automatiziranim sustavima je za oko 50 % manje utrošenog vremena u odnosu na poluautomatizirani sustav.

Zaključak: Uvođenjem automatizacije u serijsko imunohematološko testiranje DDK značajno smo skratili vrijeme testiranja i uklonili mogućnost utjecaja ljudskog faktora na dobivene rezultate.

Ključne riječi: Imunohematološko testiranje, dobrovoljni davatelji krvi (DDK), automatizacija.

# MIKROBIOLOŠKO OPTEREĆENJE PROČIŠĆENE VODE KORIŠTENE U PROIZVODNJI PARENTERALNIH PRIPRAVAKA U FARMACEUTSKOJ DJELATNOSTI HRVATSKOG ZAVODA ZA TRANSFUZIJSKU MEDICINU

Anđela Kušnjer[1], Ivanka Batarilo[1], Lidija Rukavina[1], Mihaela Štilinović[1]

[1]Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu (HZTM)

**Uvod**

Proizvodnja parenteranih pripravaka započinje proizvodnjom pročišćene vode iz pitke (gradske) vode. Proces pročišćavanja vode uključuje omekšavanje (neutralna kationska izmjena), jednostupanjsku reverznu osmozu (RO) te kontinuiranu elektrodeionizaciju (EDI). Navedenim procesima dobivena je pročišćena voda koja se upotrebljava kao sirovina za proizvodnju vode za injekcije i čiste pare te kao sredstvo za pranje i ispiranje kontaktne ambalaže odnosno proizvodne opreme. Pregrijana pročišćena voda se koristi kao medij za završnu sterilizaciju infuzijskih otopina. Jedan od parametara ispitivanja kvalitete pročišćene vode je i odre ivanje mikrobiološkog opterećenja (bioburden). Mikrobiološko opterećenje se ispituje metodom membranske filtracije. Prihvatljiv rezultat je propisan Ph.Eur. (ne više od 100 CFU/mL).

**Cilj**

Prikazati ukupne rezultate i najčešće izolate dobivene u kontroli pročišćene vode koja je važna ulazna sirovina za vodu za injekcije i dalje za proizvodnju parenteralnih pripravaka u farmaceutskoj djelatnosti HZTM za 2014. i 2015. godinu.

**Metode**

Bioburden pročišćene vode ispituje se metodom membranske filtracije (MF) u „otvorenom“ sustavu. Otvoreni sustav čine držač lijevaka, lijevci, keramički filtri i vakuum pumpa. Važno je da se MF izvodi u kontroliranim uvjetima kako bi se spriječila vanjska kontaminacija uzorka. Mjesto uzorkovanja pročišćene vode mora se dezinficirati kako bi se uklonile moguće prisutne kontaminante. Voda se pusti teći u jakom mlazu kroz 2 minute potom se mjesto uzorkovanja dezinficira 70 % etanolom (3x) i nakon toga opet ispusti voda u jakom mlazu kroz 20 sekundi. Uzorkuje se u sterilnu bocu i odmah dostavlja u laboratorij za ispitivanje. Keramički filtri i lijevci se neposredno prije uporabe obilato isperu sterilnim 96 % etanolom i spaljuju plamenom. Na keramički filter se postavi membranski te se uzorak profiltrira, a nakon toga se membranski filter prebaci na pripremljenu krutu hranjivu podlogu. Podloge se kultiviraju 5 dana na 35°C. Porasle kolonije se prebroje i obrade u svrhu identifikacije mikroorganizama.

**Rezultati**

U dvogodišnjem periodu ispitano je 2198 uzoraka pročišćene vode od čega su svi, njih 2198 (100%) bili zadovoljavajućih rezultata. Izolirane su bile bakterije koje se često na u vodenom okolišu: *Ralstonia pickettii* (32%), *Bacillus spp.* (29%), *Methylobacterium mesophilicum* (22%), *Sphingomonas paucimobilis* (8%) te *Sphingomonas spp*. (4%), ali i druge. U ukupnom broju izolata 5% su činili: *Brevundimonas vesicularis, Chryseobacterium indologenes, Micrococcus spp.*

**Zaključak**

Mikrobiološko opterećenje pročišćene vode uzorkovane u sustavu za farmaceutsku vodu u HZTM-u u granicama je prihvatljivosti, a stalnom kontrolom, redovitim čišćenjem i sanitacijom sustav se održava u zadanim granicama, a sve u cilju proizvodnje sigurnog lijeka.

**Ključne riječi:** Pročišćena voda, mikrobiološko opterećenje, membranska filtracija

# STUDENTSKA SEKCIJA / STUDENT SECTION

# UTJECAJ $Fe^{3+}$-IONA NA RAST KVASCA *Sacharomyces cerevisae* TE SADRŽAJ I SASTAV NJEGOVIH LIPIDA

N. Ražnjević[1], M. Vidović[2], G. Čanadi Jurešić[2], M. Tota[2], B. Blagović[2]

UVOD
U ovom radu ispitivan je utjecaj željeza na stanice kvasca *Sacharomyces cerevisae.* Utvrđeno je da (teški) metali, između ostalih i željezo, koreliraju s etiologijom nastanka većine neurodegenerativnih bolesti. Zajednička značajka tih bolesti je poremećena homeostaza membranskih i mitohondrijskih proteina i lipida. Kvasac je odabran kao modelni organizam jer je relativno jednostavan, a opet biološki potpuni sustav s metabolizmom vrlo sličnim višim eukariotima. Eksperimenti na kvascima su jednostavni za izvođenje te brži, jeftiniji i etički prihvatljiviji u usporedbi s animalnim modelima.
CILJ ISTRAŽIVANJA
Cilj istraživanja u ovom radu je odrediti minimalnu koncentraciju željeza koja će imati toksični utjecaj na rast stanica kvasca *Sacharomyces cerevisiae* W 303, te promjene u udjelu i sastavu lipida cijelih stanica i mitohondrija nastalih u prisustvu te minimalne toksične koncentracije $Fe^{3+}$.
METODE
Kako bi se ispitala minimalna toksična koncentracija koja utječe na rast kvasca, pripremljene su hranjive podloge s rastućim koncentracijama $Fe^{3+}$ (u obliku $FeCl_3 \times 6\ H_2O$), te kontrolna podloga bez $Fe^{3+}$. Određena toksična koncentracija primijenjena je u daljnjem eksperimentu. Kvasac se uzgajao na podlozi s $Fe^{3+}$, kao i na podlozi bez dodatka $Fe^{3+}$ (kontrolni uzorak) 20 sati. Iz stanica kvasca izolirani su mitohondriji (nakon tretmana zimoliazom). Ukupni lipidi (i cijelih stanica i mitohondrija) ekstrahirani su metodom po Folchu, a masno-kiselinski sastav određen je plinskom kromatografijom. Proteini su određeni metodom po Bradfordu.
REZULTATI
Minimalna toksična koncentracija $Fe^{3+}$ iznosi 4 mmol/L. Broj stanica kvasca izrastao nakon 20-satnog rasta na podlozi sa $Fe^{3+}$ značajno se razlikovao od kontrolnog uzorka. U sadržaju ukupnih lipida cijelih stanica nema značajnih razlika izme u netretiranog i kvasca tretiranog $Fe^{3+}$ (10,96 prema 10,60 % biomase), dok se sadržaj lipida mitohondrija značajno razlikuje (8,68 prema 5,57 mg lipida/mg proteina). U masno-kiselinskom sastavu stanica kvasca tretiranog $Fe^{3+}$ u ukupnim lipidima značajno se (dvostruko) povećava udjel zasićenih masnih kiselina, dok je u lipidima mitohondrija obrnuto. U svim uzorcima prevladavaju palmitoleinska i oleinska kiselina, odnosno nezasićene kiseline.
ZAKLJUČAK
Kationi trovalentnog željeza imaju toksičan učinak na stanicu kvasca, tj. pri koncentraciji od 4 mmol/L inhibiraju rast i razmnožavanje stanica. Isto tako to željezo utječe na lipidni sastav i cijelih stanica i mitohondrija, mijenjajući prvenstveno udjel zasićenih masnih kiselina, odnosno smanjujući udjel ukupnih lipida mitohondrija.

Ključne riječi: kvasac, željezo, lipidi, masne kiseline

[1] Fakultet zdravstvenih studija Sveučilišta u Rijeci
[2] Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci

# SEDIMENTACIJA ERITROCITA I C- REAKTIVNI PROTEIN ANALITIČKA OSJETLJIVOST I DIJAGNOSTIČKA PRIMJENA

Denis Jagečić[1], Ivana Zorica[2], Daniela Šupe Domić[3], Ljubica Žunić[2]

[1] Student Prirodoslovno matematički fakultet Zagreb, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb
[2] Sveučilišni odjel zdravstvenih studija, Sveučilište u Splitu, Split
[3] Zavod za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku, KBC Split, Split

Sedimentacija eritrocita (SE) i C reaktivni protein (CRP) su jednostavne, brze i neinvazivne laboratorijske pretrage, primjenjuju se za otkrivanje ili praćenje bolesnika sa sumnjom na upalnu bolest. Odabir SE ili CRP-a u procesu obrade i/ili liječenja bolesnika ovisi o dijagnostičkoj vrijednosti pretrage za određeno stanje ili bolest.
Sedimentacija je jedna od najstarijih laboratorijskih pretraga, kod koje brzina sedimentiranja ovisi o obliku i broju eritrocita te sastavu plazme. Povišenje u fiziološkim stanjima kao u trudnoći, dok je u brojnim patološkim stanjima povezana s upalom, anemijom, paraproteinemijom, povećanom koncentracijom fibrinogena, prisustvom hladnih aglutinina. Eritrociti se u normalnim uvjetima me usobno odbijaju zbog sijalinske kiseline Ona se nalazi na membrani eritrocita i štiti stanice od ubrzane agregacije. U upalnim stanjima se pojačano sintetiziraju proteini akutnog odgovora organizma, fibrinogen ili imunoglobulini. Ti proteini inhibiraju zaštitno djelovanje sijalinske kiseline na površini eritrocita, pa oni brže sedimentiraju.
Za određivanje brzine sedimentacije eritrocita Internacionalni odbor za standardizaciju u hematologiji (engl. *International Council for Standardisation in Haematology*, ICSH) preporučuje modificiranu metodu po Westergreenu, kojom se mjeri brzina taloženja eritrocita u standardiziranoj graduiranoj pipeti u određenom vremenu (1 sat) na sobnoj temperaturi. Posljednjih su se godina za određivanje sedimentacije razvile nove, automatizirane metode. Većina analizatora primjenjuje mikrofotometar sa infracrvenom zrakom za određivanje optičke gustoće uzorka. Metode su jednostavne i brze, ali nisu standardizirane
CRP je najznačajniji biljeg akutnoga upalnoga odgovora, osjetljiviji je od SE, u dobroj je korelaciji s težinom i opsegom upale. Povišen je u trudnoći te kod korisnica oralne kontracepcije, snižen u bolesnika sa jetrenim bolestima. Preporučene metode za određivanje CRP-a su neobilježene imunokemijske metode, imunonefelometrija i imunoturbidimetrija. Me u proteinima akutne faze koji se u laboratoriju mogu jednostavno mjeriti CRP je jedan od osjetljivijih testova sa brzim odgovorom čija metoda određivanja je standardizirana. SE nije specifična za odgovor akutne faze upale i na nju utječe hematokrit, oblik i veličina eritrocita. Unatoč mišljenju da promjene vrijednosti SE i CRP-a u podlozi imaju sličnu patofiziološku osnovu, poznate su razlike za istu bolest u vrijednostima među ova dva analita.
U laboratorijskoj dijagnostici poznavanje značajki metoda za određivanje SE i CRP-a podrazumijeva odabir prikladnog uzorka i metode, te poznavanje ograničenja metode.

Ključne riječi: CRP, sedimentacija, metode

# NOVI LABORATORIJSKI MARKERI ZA PACIJENTE KOJI BOLUJU OD REUMATSKOG ARTRITISA

J. Legac

Medicinski fakultet Sveučilišta J.J. Strossmayera u Osijeku

*Uvod:* Reumatoidni artritis (RA) je najistaknutija sistemna, autoimuna reumatska bolest koja može zahvatiti različita tkiva i organe. Upala karakteristično traje i dovodi do oštećenja zglobova uz razne patogene mehanizme koji dovode do kliničke slike i simptoma. Reumatoidni artritis predstavlja zdravstveni problem zbog svoje visoke učestalosti i smatra se multifaktorijalnom bolesti na koju djeluju okolišni čimbenici, virusne infekcije, pušenje (pušači imaju veliku predsipoziciju) i genetski čimbenici.

*Cilj studije* je usredočiti se na patogenezu reumatskog artritisa i specifične biomarkere koji su povezani s ranom dijagnozom te dovode do bolje prognoze bolesti i povećavaju terapijski učinak. Dokazi koji se temelje na laboratorijskoj medicini pružaju najbolje rezultate za pacijenta.

*Metode*: Ovaj pregledni rad je napravljen na temelju ključnih riječi i stručne literature pretražujući PubMed. Nedavno su opisana nova antitijela u RA - antikarbamilirani protein koji se pojavljuje mnogo godina prije postavljanja dijagnoze RA pomoću kojeg se može predvidjeti razvoj RA u zglobovima bolesnika. Visoka rezolucija ultrazvučne opreme omogućuje detaljnu procjenu anatomskih promjena koja je vrijedna za rano dijagnosticiranje i praćenje kroničnog artritisa. Dijagnoza RA se postavlja na temelju: anamneze, fizikalnog pregleda, laboratorijskih pretraga (sedimentacija eritrocita, CRP, RF, anti-CCP, hematološki i imunološki testovi), radiološke pretrage.

*Rezultati* ovog istraživanja su pokazali da je MMP (metaloproteinaza matriksa) koristan biljeg za predvi anje propadanja zglobova tj. prediktor razaranja zglobova u RA. Varijacije gena MMP1 I MMP3 utječu na rezultate odnosno na serumsku razinu MMP-1 i na aktivnost bolesti. MMP3 je značajno povezan s aktivnošću bolesti, upalnim medijatorima i razgradnjom hrskavice te predstavlja potencijalni biomarker težine bolesti. Smatra se da je osjetljivost određivanja antikarbamiliranog proteina manja od ACPA no istodobno određivanje je korisno u identifikaciji.

*Zaključak:* Velika je vjerojatnost da će učitkovito i sigurno djelovati na sličnost između karakteristika pacijentove bolesti i kohorte koji reagira na terapiju. Analiza više biomarkera, pogotovo post-translacijski biomarkeri u RA, može pomoći da se stratificira populacija pacijenata u različitim podskupinama koje pokazuju različite rezultate i odgovore na specifične terapijske tretmane. U budućnosti se očekuje značajno poboljšanje koje se može dobiti uz genomiku i proteomiku kako bi se okarakterizirao individualni profil pacijenta u vrijeme postavljanja dijagnoze i odgovor na terapiju. Serološki biomarkeri uz ultrazvuk mogu osigurati dodatnu korist u dijagnozi RA, osobito u početku bolesti.

Ključne riječi: RA (reumatoidni artritis), biokemijski biljezi, patogeneza.

# POZNAVANJE PREDANALITIKE U STUDIJSKOM PROGRAMU ZDRAVSTVENOG VELEUČILIŠTA

M.Begović[1], M.Čuljak[2]

[1]Zdravstveno veleučilište Zagreb
[2]KBC Sestre milosrdnice, Zavod za kliničku kemiju, Zagreb, Hrvatska

UVOD: Tri su osnovne faze laboratorijskog procesa: predanalitička, analitička i postanalitička. Predanalitička faza obuhvaća sve procese koji se odvijaju u vremenu od kada je liječnik zatražio pretrage, pa do trenutka u kojem je uzorak spreman za analizu, a obuhvaća identifikaciju i pripremu bolesnika, prikupljanje i rukovanje uzorcima. Najviše pogrešaka nastaje u predanalitičkoj fazi (46-68%) koja je po vremenu trajanja najduži, a time i najkritičniji dio laboratorijskog procesa.

CILJ: Cilj ovog istraživanja bio je ispitati poznavanje i zastupljenost teorijskih i praktičnih znanja o predanalitici i uzorkovanju krvi me u studentima medicinsko-laboratorijske dijagnostike Zdravstvenog veleučilišta.

MATERIJALI I METODE: Ispitivanje je provedeno putem upitnika. 60 studenata Zdravstvenog veleučilišta Zagreb, studija Medicinsko-laboratorijske dijagnostike, je putem anonimnog upitnika odgovaralo na 6 kratkih pitanja o zastupljenosti predanalitike i stupnju teorijskih i praktičnih znanja koja su do sada stekli na studiju.

REZULTATI: Na prvo pitanje, je li im poznato što podrazumijeva predanalitička faza laboratorijskog procesa, od 60 studenata njih 58 je odgovorilo DA (97%), a 2 studenta su odgovorila NE (3%).

7 (12%) studenata su odgovorili da su njihova znanja o predanalitici loša, 46 (76%) studenata da su dobra, a njih 7 (12%) da su odlična.

36 (60%) studenata je odgovorilo da su tijekom studijskog programa usavršavali vještine uzorkovanja venske i kapilarne krvi, a njih 24 (40%) nije.

Kod 7 studenata (12%) teorijska i praktična znanja o uzorkovanju krvi su loša, kod njih 47 (78%) su dobra, a kod 6 (10%) studenata odlična.

59 (98%) studenata tijekom studijskog programa upoznali su se s vrstama spremnika i antikoagulansima za uzorkovanje krvi, a samo 1 (2%) nije.

U konačnici, 55 (91%) studenata smatra da bi predanalitika trebala postati sastavni dio nastavnog programa, studija Medicinsko-laboratorijske dijagnostike, a njih 5 (9%) ne smatra potrebnim.

ZAKLJUČAK: Prema provedenom istraživanju, studenti vladaju prosječnim teorijskim znanjima o predanalitici, ali ih nešto manje od polovine nije zadovoljno praktičnim znanjima o uzorkovanju krvi. Prvostupnici studija Medicinsko-laboratorijske dijagnostike, zauzimaju važno mjesto u predanalitičkoj fazi, te bi predanalitika trebala postati zasebna cjelina nastavnog programa, studija Medicinsko - laboratorijske dijagnostike s ciljem prevencije pogrešaka u budućem radu.

*Ključne riječi*: predanalitika, studenti, uzorkovanje

# LABORATORIJSKI POKAZATELJI NEPOVOLJNOG ISHODA KOD HOSPITALIZIRANIH BOLESNIKA SA ZATAJIVANJEM SRCA

M. Paušić[1], M. Vranješević[1], T. Zaninović Jurjević[2], N. Jurjević[3], A. Lekić[4], L. Zaputović[2], Š. Dvornik[5]

[1]Fakultet zdravstvenih studija Sveučilišta u Rijeci, Hrvatska, student; [2]KBC Rijeka, Klinika za internu medicinu, Rijeka, Hrvatska; [3]Dom zdravlja Primorsko-goranske županije, Rijeka, Hrvatska; [4]Fakultet zdravstvenih studija Sveučilišta u Rijeci, Katedra za temeljne medicinske znanosti, Rijeka, Hrvatska; [5]Fakultet zdravstvenih studija Sveučilišta u Rijeci, Katedra za laboratorijsku i radiološku dijagnostiku, Rijeka, Hrvatska

Uvod
Zatajivanje srca (ZS) je patofiziološko stanje u kojemu poremećaji funkcije srca uzrokuju njegovu nesposobnost da primi i/ili istisne količinu krvi potrebnu za zadovoljenje metaboličkih potreba tkiva, unatoč normalnom tlaku punjenja. Usprkos boljem liječenju tijekom posljednjih 20 godina, prognoza za bolesnike sa ZS je još uvijek nepovoljna, te čak 17% bolesnika umire tijekom hospitalizacije. Veliki broj čimbenika povezan je s ishodom u bolesnika sa ZS: demografski, anamnestički, klinički, električne i hemodinamske varijable, neurohormoni, citokini, a važni su pokazatelji i rezultati slikovnih metoda, odnosno laboratorijskih testova.
Cilj studije
Ispitati prognostičku vrijednost rutinskih laboratorijskih parametara u hospitaliziranih bolesnika sa ZS.
Metode
U ispitivanje su uključeni bolesnici koji su u razdoblju od četiri mjeseca tijekom 2015.godine bili primljeni na liječenje na Zavod za kardiovaskularne bolesti Klinike za internu medicinu, KBC-a Rijeka s dekompenziranim ZS. Rutinski laboratorijski nalazi napravljeni su uobičajenim, preporučenim metodama i to pri prijemu, u tijeku i pri otpustu bolesnika, a analizirani su obzirom na ishod hospitalizacije.
Rezultati
U promatranom razdoblju ukupno je hospitalizirano 165 bolesnika, a 26 (16 %) ih je umrlo. Prosječna dužina hospitalizacije bila je 9 dana. Bolesnici s povoljnim ishodom imali su značajno niže koncentracije ureje, kreatinina, troponina T, urata, moždanog natrijuretskog peptida (NT-proBNP), te katalitičku koncentraciju aspartat-aminotransferaze (AST), alkalne fosfataze (AP) i gama-glutamil-transferaze (GGT) u odnosu na bolesnike koji su imali nepovoljni ishod. Isto tako, preživjeli bolesnici imali su bolju saturaciju kisika ($sO_2$), niži srednji volumen trombocita i nižu prosječnu širinu eritrocita, ali veći broj leukocita. ROC analiza je pokazala da $sO_2$, GGT, te koncentracije urata, NT proBNP-a, troponina T, ureje i kreatinina imaju dobru sposobnost razdvajanja ispitivanih skupina.
Zaključak
Naše ispitivanje je pokazalo da su rezultati rutinskih laboratorijskih analiza važni pokazatelji koji mogu pomoći u procjeni stanja bolesnika pri prijemu u bolnicu, te za prognozu ishoda hospitalizacije. Kod bolesnika sa ZS, od ispitivanih laboratorijskih pretraga, najbolju sposobnost diskriminacije izme u skupina s povoljnim i nepovoljnim ishodom hospitalizacije imala je koncentracija NT proBNP-a.

Ključne riječi: laboratorijski pokazatelji, zatajivanje srca, NT-proBNP

# PROGNOSTIČKA VRIJEDNOST LABORATORIJSKIH PARAMETARA KOD BOLESNIKA NA KRONIČNOJ HEMODIJALIZI S ATEROSKLEROTSKOM BOLEST

M. Vranješević[1], M. Paušić[1], M. Kocijančić[2], B. Devčić[3], Š. Dvornik[4]

[1]Fakultet zdravstvenih studija Sveučilišta u Rijeci, student
[2]Dom zdravlja Primorsko-goranske županije, Odjel za laboratorijsku dijagnostiku, Rijeka, Hrvatska
[3]KBC Rijeka, Klinika za internu medicinu, Zavod za nefrologiju, dijalizu i transplantaciju bubrega, Rijeka, Hrvatska
[4]Fakultet zdravstvenih studija Sveučilišta u Rijeci, Katedra za laboratorijsku i radiološku dijagnostiku, Rijeka, Hrvatska

Uvod
Poznato je da su komplikacije vezane uz kardiovaskularne bolesti (KVB) značajan uzrok smrtnosti kod bolesnika na kroničnoj hemodijalizi (HD), te da pacijenti koji se liječe HD imaju i do 30 puta veću stopu smrtnosti induciranu KVB. Laboratorijski pokazatelji čimbenika rizika za KVB važni su za praćenje i prognozu kod ovih bolesnika.
Cilj studije
Ispitati stopu preživljenja bolesnika na kroničnoj HD sa i bez aterosklerotske bolesti, te prognostičku vrijednost rutinskih laboratorijskih parametara, čimbenika rizika za KVB.
Metode
Ukupno 80 bolesnika na HD uključeno je u ispitivanje koje je trajalo od srpnja 2011. do rujna 2012. godine. Bolesnici su podijeljeni u dvije skupine - sa i bez aterosklerotske bolesti. Preživljenje bolesnika praćeno je još 15 mjeseci nakon završetka istraživanja. Uz standardne biokemijske pokazatelje ureju i kreatinin, te koncentraciju urata, analizirana je koncentracija cistatina C, pokazatelji upale C-reaktivni protein i feritin, te srčani biljezi troponin T i natrijuretski peptid (NT-proBNP). Biokemijske analize napravljene su rutinskim, preporučenim metodama na biokemijskom analizatoru Cobas 6000, a cistatin C, troponin T i NT-proBNP odre eni su imunokemijskim metodama.
Rezultati
Na početku studije HD-ni bolesnici koji su imali aterosklerotsku bolest imali su statistički značajno veću koncentraciju troponina T (P=0,019), te nižu koncentraciju kreatinina (P=0,044) u odnosu na kontrolnu skupinu. Nakon 15 mjeseci, koncentracija troponina T je i dalje bila statistički značajno veća u bolesnika s aterosklerotskom bolesti u odnosu na kontrolnu skupinu (P=0,016), a koncentracija NT-proBNP-a je statistički značajno porasla, te je bila veća u bolesnika s aterosklerotskom bolesti (P=0,017). Kaplan-Meier krivulja preživljenja pokazala je kako bolesnici s aterosklerozom imaju znatno lošiju stopu preživljenja, s rizikom smrtnosti koji je bio 9,7 puta veći u odnosu na kontrolnu skupinu. Niti jedan ispitivani laboratorijski parametar se nije pokazao prediktorom smrtnosti.
Zaključak
HD-ni bolesnici s aterosklerotskom bolesti su na kraju studije imali statistički veću koncentraciju troponina T i NT-proBNP-a, kao i znatno lošiju stopu preživljenja u odnosu na kontrolnu skupinu.

Ključne riječi: hemodijaliza, kardiovaskularne bolesti, troponin T, NT-proBNP

# HLA CLASS II ALLELE ASSOCIATION WITH JUVENILE IDIOPATHIC ARTHRITIS IN EASTERN CROATIA

S. Marczi[1,2], M. Anđelić[3], N. Turjak[4], S. Tokić[1,2], Lj. Glavaš-Obrovac[2]

[1]Department of Molecular Diagnostics and Tissue Typing, Institute of Clinical Laboratory Diagnostics, Osijek University Hospital, Osijek, Croatia;

[2]Department of Medicinal Chemistry, Biochemistry and Clinical Chemistry, Faculty of Medicine, University of Osijek, Osijek, Croatia;

[3]Faculty of Medicine, University of Osijek, Osijek, Croatia;

[4]Pediatric Clinic, Osijek University Hospital, Osijek, Croatia

Introduction: Juvenile idiopathic arthritis (JIA) refers to a clinically heterogeneous group of arthropathies that occur before the age of 16. The existence of a set of genetic traits, particularly distinctive HLA allele variants, is considered to be the risk for developing the clinical manifestations of JIA. Objective: The aim of our study was to investigate the association of HLA-DRB1 and -DQB1 allele frequencies with JIA in Eastern Croatia. Methods: This retrospective study included 67 unrelated children (46 girls and 21 boys) aged 2-23 years (14  5) with diagnosis of JIA. HLA-DRB1 and -DQB1 alleles were determined by low resolution PCR-SSP technique. Allele frequencies were compared to control group consisted of 210 previously typed unrelated healthy individuals. Comparison was performed using two-tailed Fischer's exact test and odds ratio (95% CI). Results: The increased frequencies of HLA-DRB1*03 (OR 1.41), -DRB1*08 (OR 1.41), -DRB1*11 (OR 1.21), -DRB1*15 (OR 1.28), -DQB1*03(DQ8) (OR 2.00) and -DQB1*06 (OR 1.2) were found when total patients group was compared to controls, but results did not achieve significance ($p<0.05$). After stratification of JIA cohort, increased frequencies of HLA-DRB1*03 (OR 1.52), -DRB1*04 (OR 1.65), -DRB1*07 (OR 1.39), -DRB1*11 (OR 1.34), -DRB1*12 (OR 2.16), -DQB1*02 (OR 1.32), -DQB1*03(DQ7) (OR 1.32), -DQB1*03(DQ8) (OR 2.76) and -DQB1*03(DQ9) (OR infinity) were observed in monoarthrytis subgroup. In patients with olygoarthritis the increased frequency of HLA-DRB1*08 (OR 2.81), -DRB1*15 (OR 3.48), -DQB1*03(DQ8) (OR 2.22) and -DQB1*06 (OR 2.65) was found. A higher frequency of HLA-DRB1*03 (OR 1.77), -DRB1*08 (OR 1.49), -DRB1*13 (OR 1.33), –DRB1*14 (OR 2.16) and –DQB1*04 (OR 1.59) was revealed in the polyarthritis subgroup. The only statistically significant difference between JIA subtypes and controls was observed for HLA–DRB1*15 ($p$=0,006) in olygoarthrytis. Conclusion: Our current data suggest that HLA-DRB1 and -DQB1 alleles have a role in susceptibility to JIA in Eastern Croatian population. The distinctive HLA-DRB1 and -DQB1 alleles might be associated with different JIA subtypes. Further enlargement of subgroups is required for strengthening statistical power of study.

Key words: JIA, HLA

# PRAĆENJE USPJEHA TERAPIJE ZA KRONIČNU MIJELOIČNU LEUKEMIJU – MEĐUNARODNA STANDARDIZACIJA KVANTIFIKACIJE BCR-ABL PRIJEPISA

Z. Živković

Medicinski fakultet Sveučilišta J.J. Strossmayera u Osijeku

Uvod: Kronična mijeloična leukemija (KML) je mijeloproliferativni poremećaj karakteriziran nereguliranim razvojem mijeloidnih stanica u koštanoj srži i njihovim nakupljanjem u krvi. Recipročnom translokacijom ABL gena na kromosomu 9 sa BCR genom na kromosomu 22 (Philladelphia kromosom) nastaje BCR-ABL1 fuzijski gen koji eksprimira onkoprotein BCR- ABL tirozin kinazu koja uzorukuje proliferaciju specifičnih stanica u KML. Inhibitori tirozin kinaze (TKIs) inhibiraju aktivnost BCR-ABL tirozin kinaze i sastavni su dio lijekova koji se koriste za liječenje KML. TKI terapija za KML ima potencijal smanjiti jačinu bolesti ispod razine detekcije u hematološkim i citogenetskim testiranjima i potrebno ju je molekularno pratiti.

Cilj: Standardizacija tehnika i metoda korištenih za praćenje odgovora na TKI lijekove i smanjenja kronične mijeloične leukemije.

Metode: Pretraživanjem baze PubMed pomoću ključnih riječi prikupljeni su podaci iz stručne medicinske literature. Prema pregledanoj literaturi praćenje učinka terapije u laboratoriju odvija se pomoću genetičkih analiza koštane srži, FISH i RT-qPCR. Molekularno praćenje BCR-ABL1 iz uzorka periferne krvi kvantitativnim RT-PCR-om postalo je vrlo važno u praćenju odgovora na terapiju, stupnja minimalne ostatne bolesti i relapsa.

Rezultati: Međunarodni napori za bolju standardizaciju BCR-ABL1 RT-qPCR rezultirali su dvama znajčajnim postignućima – uvođenjem IS (engl. *international scale*) jedinice kao standardizirane jedinice za BCR-ABL1 te standardizacijom kontrolnih endogenih gena i referentnog materijala.

Zaključak: Praćenje molekularnog odgovora na TKI terpiju u bolesnika sa KML je bitna komponenta suvremenog liječenja bolesti i ima važnu ulogu u odabiru pacijentove terapije. Molekularni odgovor mjeren BCR-ABL1 RT-qPCR pruža važne prognostičke podatke za liječenje bolesnika s KML. Teži se izradi i procjeni sekundarnih referentnih materijala u rutinskim testiranjima.

Ključne riječi: Kronična mijeloična leukemija, BCR-ABL1, standardizacija, RT-qPCR

# HLA RISK GENOTYPES FOR TYPE 1 DIABETES IN PATIENTS OF EASTERN CROATIA

A. Bugarin[1], A. Užanicki[2], S. Marczi[1, 2], S. Tokić[1, 2], Lj. Glavaš-Obrovac[2]

[1]Osijek University Hospital Centre, Institute of Clinical Laboratory Diagnostics, Department of Molecular Diagnostics and Tissue Typing, Osijek, Croatia;
[2] Faculty of Medicine, J.J. Strossmayer University of Osijek, Osijek, Croatia

Introduction: Type 1 diabetes is a complex, autoimmune disease arising due to destruction of insulin producing beta-cells of the pancreas, and the interaction of genetic and environmental factors. Alleles of HLA system are most influential genetic factors for developing T1D. The link between type 1 diabetes (T1D) and the HLA system has been continuously studied for the past 40 years.

The aim of the study: To investigate the distribution of allelic- (HLA-A, -B, -DRB1, -DQB1, - DQA1 loci) and haplotype- (DRB1-DQA1-DQB1) variants of the HLA system genes and their possible connection to T1D as risk variants in diabetic patients of Eastern Croatia.

Materials and Methods: DNA was isolated from whole blood EDTA samples of 81 patients diagnosed with T1D. HLA typing was done using high or low resolution PCR-SSP method. The data for control samples were obtained from 210 previously typed, healthy, non-related individuals. Comparison was performed using two-tailed Fisher s exact test ($P$<0,01).

Results: Significant differences in allele frequencies between diabetic patients and the control group were found for HLA-B*08 allele ($P$<0.0001). However, the significance of HLA class I alleles has been ascribed to the linkage disequilibrium with class II alleles. The following allel frequencies were higher in T1D patients: DQB1*03:02 (31.86)($P$<0.0001); DQB1*02 (32.10 %)($P$<0.0001); DRB1*04 (31.48 %)($P$<0.0001); DRB1*03 (27.16%)($P$<0.0001); DQA1*03:01 (37.50 %)($P$<0.0001). Lower allele frequencies in patients were HLA-B*07($P$=0.0007), DQB1*06 (6.79 %)($P$<0.0001); DRB*15 (1.85 %)($P$=0.0002); DRB*11 (5.56 %)($P$=0.0008); DQA1*01:02 (7.5 %)($P$<0.0001), indicating a possible protective effect. The most frequent haplotypes among patients were also in concordance with the existing literature as positively correlated to T1D: DRB1*04-DQA1*03:01-DQB1*03:02 (37 %) and DRB1*03-DQA1*05:01- DQB1*02:01 (26.25 %). Only 7/40 (17.5 %) of patients had none of the abovementioned haplotypes.
Conclusion: The results of this study indicate that the genetic susceptibility to T1D in patients of Eastern Croatia is linked to the alleles of the HLA DR and DQ locus, precisely to the following haplotype combinations: DQB1*03-DQA1*05:01-DQB1*02:01 / DRB1*04-DQA1*03:01- DQB1*03:02. Obtained results are in a good correlation with the available research results of studies on Caucasians.

Keywords: T1D, HLA

# SPONZORI / SPONSORS

## ZLATNI SPONZOR / GOLD SPONSOR

A&B

A&B d.o.o.
Heinzelova 15a,
Zagreb, Croatia
+385 1 239 68 88
e-mail: info@aandb.hr

## BRONČANI SPONZOR / BRONZE SPONSOR

BIOGNOST®
PHARMACEUTICALS AND DIAGNOSTICS

## OSTALI SPONZORI / OTHER SPONSORS

Certitudo

BioSpectra

Medic

Meditex

Kefo

Radiometer

Roche