1. KONGRES HRVATSKE KOMORE ZDRAVSTVENIH RADNIKA

S MEĐUNARODNIM SUDJELOVANJEM

KNJIGA SAŽETAKA

STRUKOVNI RAZRED ZA MEDICINSKO-LABORATORIJSKU DJELATNOST

STRUKOVNI RAZRED ZA DJELATNOST SANITARNOG INŽENJERSTVA

POD POKROVITELJSTVOM :
MINISTARSTVA ZDRAVLJA REPUBLIKE HRVATSKE
I
MINISTARSTVA POLJOPRIVREDE REPUBLIKE HRVATSKE

ULOGA MEDICINSKO LABORATORIJSKE DIJAGNOSTIKE I SANITARNOG INŽENJERSTVA U ZDRAVSTVU

18. – 21. travanj 2012. godine
HOTEL CORINTHIA (BAŠKA, OTOK KRK), HRVATSKA

HRVATSKA KOMORA ZDRAVSTVENIH RADNIKA
Vinogradska cesta 29, PP 263, ZAGREB;
Tel/Fax: 01 4667-990, info@kongres.hkzr.hr, www.kongres.hkzr.hr

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 1 5/13/2012 11:59:55 PM

HRVATSKA KOMORA ZDRAVSTVENIH RADNIKA
Vinogradska cesta 29, PP 263, ZAGREB;
Tel/Fax: 01 4667-990
E-mail: info@kongres.hkzr.hr
mld@kongres.hkzr.hr
dsi@kongres.hkzr.hr
URL: www.kongres.hkzr.hr

STRUKOVNI RAZRED ZA MEDICINSKO-LABORATORIJSKU DJELATNOST

STRUKOVNI RAZRED ZA DJELATNOST SANITARNOG INŽENJERSTVA

www.kongres.hkzr.hr

18. – 21. travanj 2012. godine
HOTEL CORINTHIA
BAŠKA (OTOK KRK), HRVATSKA

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 2 5/14/2012 12:00:19 AM

1. KONGRES
HRVATSKE KOMORE ZDRAVSTVENIH RADNIKA
S MEĐUNARODNIM SUDJELOVANJEM

POD POKROVITELJSTVOM :
MINISTARSTVA ZDRAVLJA REPUBLIKE HRVATSKE
I
MINISTARSTVA POLJOPRIVREDE REPUBLIKE HRVATSKE

ULOGA MEDICINSKO LABORATORIJSKE DIJAGNOSTIKE I SANITARNOG INŽENJERSTVA U ZDRAVSTVU

www.kongres.hkzr.hr

TEME KONGRESA :

HISTOPATOLOGIJA S CITOLOGIJOM
KLINIČKA MIKROBIOLOGIJA
TRANSFUZIJSKA MEDICINA
KLINIČKA KEMIJA S HEMATOLOGIJOM
KLINIČKA IMUNOLOGIJA S MOLEKULARNOM DIJAGNOSTIKOM
SANITARNA MIKROBIOLOGIJA
SANITARNI NADZOR
ZDRAVSTVENA EKOLOGIJA
SANITARNO INŽENJERSTVO U ZNANOSTI
EPIDEMIOLOGIJA

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 3 5/14/2012 12:00:19 AM

ORGANIZACIJSKI ODBOR :

JASNA MATIĆ, bacc.med.lab. diagn.
Predsjednica organizacijskog odbora
Dopredsjednica HKZR-a, Voditeljica SR MLD
Klinički zavod za patologiju ''Ljudevit Jurak'',
KBC ''Sestre milosrdnice'', Zagreb

dr.sc. **ALEKSANDAR BULOG**, dipl,san.ing.
Zamjenik predsjednice organizacijskog odbora
Zdravstveno-ekološki odjel, Nastavni zavod za javno zdravstvo
Primorsko-goranske županije, Rijeka

NEVEN SUČIĆ, bacc.med.lab.diagn.
Član organizacijskog odbora
Mikrobiološki odjel, Nastavni zavod za javno zdravstvo
Primorsko-goranske županije, Rijeka

MIRKO KELAVA, san.ing.
Član organizacijskog odbora
Predsjednik HKZR-a, Voditelj SR DSI
Zavod za javno zdravstvo "Dr. Andrija Štampar", Zagreb

MIRKA BATARELO, bacc.med.lab.diagn.
Član organizacijskog odbora
Klinička jedinica za transplantaciju solidnih organa
Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju
KBC Zagreb, Zagreb

ANDREA IVEZIĆ, bacc.san.ing.
Član organizacijskog odbora
Qualitas d.o.o., Zagreb

ZORAN VEZMAR, bacc.med.lab.diagn.
Član organizacijskog odbora
Klinički zavod za kliničku mikrobiologiju
Klinički bonički centar Rijeka, Rijeka

DARIO BRDARIĆ, dipl.san.ing.
Član organizacijskog odbora
Služba za zdravstvenu ekologiju
Zavod za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije, Osijek

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 4 5/14/2012 12:00:43 AM

STRUČNO-ZNANSTVENI ODBOR :

Prof.dr.sc. **LJUBICA GLAVAŠ-OBROVAC**, mag.ing.
Medicinski fakultet Sveučilišta J.J. Strossmayer, Osijek
Klinički bolnički centar Osijek, Osijek

Dr. sc. **SANJA MILENKOVIĆ**, dr.med.
KBC Zemun, Zemun, Republika Srbija

Prim.dr.sc. **ANTE RELJIĆ**, dr.med.
KBC „Sestre milosrdnice“, Zagreb

Prof.dr.sc. **BOŽO KRUŠLIN**, dr.med.
Klinički zavod za patologiju ‘’Ljudevit Jurak’’,
KBC ‘’Sestre milosrdnice’’, Zagreb

Prof.dr.sc. **VLADIMIR MIĆOVIĆ**, dr.med.
Nastavni zavod za javno zdravstvo
Primorsko-goranske županije, Rijeka

Prof.dr.sc. **MARINA ŠANTIĆ**, dipl.san.ing.
Medicinski fakultet, Sveučilište u Rijeci, Rijeka

Prof.dr.sc. **JASNA BOŠNIR**, dipl.san.ing.
Zavod za javno zdravstvo „Andrija Štampar“, Zagreb

Prof.dr.sc. **INES MRAKOVČIĆ-ŠUTIĆ**, dr.med.
Medicinski fakultet, Sveučilište u Rijeci, Rijeka

Prof.dr.sc. **DAMIR JEŽEK**, dipl.ing.bioteh.
Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb

Mr.sc. **ĐANA PAHOR**, dr.med.
Nastavni zavod za javno zdravstvo
Primorsko-goranske županije, Rijeka

MARIJAN BARIŠIĆ, bacc.med.lab.diagn.
Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu, Zagreb

MIRKA BATARELO, bacc.med.lab.diagn.
Klinička jedinica za transplantaciju solidnih organa
Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju
KBC Zagreb, Zagreb

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 5 5/14/2012 12:00:57 AM

SADRŽAJ

SAŽETCI - POZVANA PREDAVANJA

Lj. Glavaš-Obrovac
MOGUĆNOSTI HARMONIZACIJE PROGRAMA HRVATSKIH PREDDIPLOMSKIH STUDIJA BIOMEDICINSKO LABORATORIJSKE DIJAGNOSTIKE S ROGRAMIMA SRODNIH DIPLOMSKIH STUDIJA U EUROPSKOJ UNIJI 10

M. Culliton
RAISING THE PROFILE OF BIOMEDICAL SCIENTISTS IN EUROPE..... 10

A. Reljić, S. Davidović-Mrsić, J. Matić, B. Krušlin
RANA DIJAGNOSTIKA RECIDIVA KARCINOMA MOKRAĆNOG MJEHURA: OD MOLEKULARNE DO HISTOLOŠKE DIJAGNOZE 11

S. Milenković
ARTEFAKTI U HISTOPATOLOGIJI ILI KO JE KRIV? 12

SAŽETCI - PREDAVANJA

B. Trninić
PRAĆENJE KONCENTRACIJE C-REAKTIVNOG PROTEINA U BOLESNIKA S OPEKLINAMA ... 13

B. Orehovec
MEHANIZAM PRIMARNE FAZE HEMOSTAZEA 13

Z. Ivančić, R. Pavetić, D. Jurić, S. Rečić, A. Cvitković, M. Tomić Paradžik
DOKAZ ANTIGENA NOROVIRUSA BRZIM IMUNOKROMATOGRAFSKIM TESTOM (AZOG NOROVIRUS TEST DEVICE) 14

I. Regan
MIKROBIOLOŠKA ČISTOĆA METODOM MEMBRANSKE FILTRACIJE 15

K. Kopić, Ilievski, Sviličić, Prpić, Balog
TIPIZACIJA HLA U DIJAGNOSTICI BOLESTI - ANALIZA PODATAKA 2011 G. 15

S. Salamunović, D. Sviličić, D. Čleković, R. Žunec
RASPODJELA ALELA SUSTAVA HLA KOD KADAVERIČNIH DARIVATELJA ORGANA U REPUBLICI HRVATSKOJ 16

B. Karaula, Lj. Ratkajec
VELIKI REZOVI U PATOLOGIJI DOJKE 16

M. Trbojević-Ćepe, E. Stanković
ANTIGANGLIOZIDNA ANTITIJELA U DIJAGNOSTICI NEUROPATIJA 17

T. Gudelj, S. Hančić, P. Korać, S. Gašparov, M. Dominis
EPIGENETIKA: PRIMJENA U HEMATOPATOLOGIJI 17

J. Matić, M. Kos
SMRZNUTI REZOVI: HISTOTEHNOLOŠKI PRISTUP..... 18

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 6 5/14/2012 12:00:58 AM

SADRŽAJ

M. Glavota, V. Blažičević, P. Balić, M. Markasović, B Tijardović
KARCINOM DOJKE-HERCEP TEST-HERCEPTIN 18

S. Šlegl, M. Jalšovec, I. Miše, S. Grbin, J. Mandžo, M. Horvat
VRIJEDNOST I ZNAČENJE CITOKEMIJSKE PERIODIC ACID-SCHIFF (PAS)-REAKCIJE U ONKOLOŠKOJ CITOLOGIJI 19

K. Ražnjević
IN SITU HIBRIDIZACIJA 20

V. Čegec, V. Cipek, Č. Maglov
TROMBAFEREZE-DOBIVANJE KONCENTRATA TROMBOCITA OD JEDNOG DAVATELJA 20

T. Karaula, Ž. Lubina, M. Semijalac, M. Strauss Patko
PROIZVODNJA KONCENTRATA TROMBOCITA U HZTM 21

V. Cvjetković, V. Fazlović
AUTOMATIZIRANI PREDANALITIČKI SUSTAVI U LABORATORIJSKOM PROCESU 21

S. Dragović, V. Majstorović
ZAŠTO BITI LABORATORIJSKI TEHNIČAR PATOHISTOLOŠKOG USMERENJA? 22

D. Brdarić, D. Kralik, S. Rudan, M. Valek, Đ. Mihić, Ž. Bajto, M. Šimović
GOSPODARENJE BIOMASOM I PROIZVODNJA ENERGIJE POSREDSTVOM BIOPLINA – "WASTE TO ENERGY" SUSTAV 23

D. Brdarić, D. Kralik, S. Rudan, M. Sikora, M. Kovačević, V. Bertić, D. Jovičić
PROIZVODNJA BIOPLINA IZ SMJESE KLAONIČKOG OTPADA I SVINJSKE GNOJOVKE 23

N. Landeka
PRIKAZ ISTRAŽIVANJA BIOLOGIJE I RASPROSTRANJENOSTI CRNE UDOVICE, LATRODECTUS TREDECIMGUTTATUS, ROSSI 1790, NA PODRUČJU HRVATSKE 24

A. Ivezić
LEAN UPRAVLJANJE U PREHRAMBENIM TVRTKAMA 24

V. Jurčević Podobnik, Đ. Pahor
ULOGA SANITARNE STRUKE U IZRADI SEKTORSKIH VODIČA ZA DOBRU HIGIJENSKU PRAKSU I PRIMJENU HACCP NAČELA KAO I PRIMJENI VODIČA U PRAKSI 25

D. Vodopija Sušanj, Đ. Pahor
SAVJETODAVNA ULOGA SANITARNOG INŽENJERA U RJEŠAVANJU STRUKTURALNIH, SANITARNO TEHNIČKIH I HIGIJENSKIH PREDUVJETA U OBJEKTIMA KOJI POSLUJU HRANOM 25

D. Budimir, Đ. Pahor
ULOGA MAGISTRA SANITARNOG INŽENJERSTVA U POSTUPKU IMPLEMENTACIJE HACCP SUSTAVA U DJEČJEM VRTIĆU 26

S. Čiča , Đ. Pahor
ULOGA SANITARNE STRUKE U HIGIJENSKO - EPIDEMIOLOŠKOM NADZORU NA PRIMJERU OBJEKATA ZA ŠPORT I REKREACIJU 26

S. Matanić-Stojanović, D. Ravnić
IMPLEMENTACIJA HACCP SUSTAVA U PULSKE OSNOVNE ŠKOLE – PRIKAZ SURADNJE ZAVODA ZA JAVNO ZDRAVSTVO ISTARSKE ŽUPANIJE I GRADA PULE 27

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 7 5/14/2012 12:00:58 AM

SADRŽAJ

SAŽETCI - POSTER PREZENTACIJE

M. Čuljak, E. Halilović, N. Božić, N. Vrkić
LABORATORIJSKI POKAZATELJI TERAPIJSKOG UČINKA ERITROPOETINA KOD ANEMIJE KRONIČNE BUBREŽNE BOLESTI 28

V. Frigo, N. Radić
ANALIZA FUNKCIJE SUSTAVA KOMPLEMENTA 28

E. Halilović, B. Getaldić Švarc, M. Čuljak, N. Božić, N. Vrkić
EVALUACIJA METODE ZA ODREĐIVANJE RETIKULIRANIH TROMBOCITA NA ABBOTT CD SAPPHIRE 29

S. Jelić, D. Zec-Boronjek, Ž. Romić, A. Unić
POWER LINK – NOVI INTEGRACIJSKI SUSTAV U LABORATORIJU 29

V. Šimičević, M. Kelšin, Ž. Lipovšek Dunimagloski, M. Blažetić, B. Međimurec, ...
ANALITIČKA VERIFIKACIJA METODE ROCHE TINA-QUANT HEMOGLOBIN A1C, GEN. 2 NA ANALIZATORU ROCHE COBAS INTEGRA 400 PLUS 30

Lj. Mikan, A. Popov, M. Kovačević, M. Kajfeš, M. Barišić, M. Tomičić
ULOGA LABORATORIJSKOG TEHNIČARA U PREPOZNAVANJU PSEUDOTROMBOCITOPENIJE OVISNE O ETILENDIAMINTETRAOCTENOJ KISELINI (EDTA) 30

H. Ljubić, Lj. Juričić, A. Merkler, D. Caban, K. Petrović, S. Telarović, M. Relja, J. Sertić
ODREĐIVANJE BROJA TRIPLETA CAG U MOLEKULARNO-GENETIČKOJ DIJAGNOSTICI HUNTINGTONOVE BOLESTI KAPILARNOM ELEKTROFOREZOM 31

D. Caban, I. Rako, J. Jakić-Razumović, D. Katalinić, J. Sertić
ULOGA ODREĐIVANJA STATUSA GENA KRAS U KOLOREKTALNOM KARCINOMU 32

M. Anđelić, M. Slivar-Renić, M. Jandrlić, …
NASLOV: BAKTERIJEMIJE I FUNGEMIJE U HEMATOLOŠKIH BOLESNIKA LIJEČENIH TIJEKOM 2005.-2010. NA KBC ZAGREB 32

S. Sabljak, E. Šarlija, R. El Barq, A. Karadžić, I. Ožvald
ZNAČAJ PRAĆENJA PRIJEANALITIČKIH INDIKATORA U ANALITICI LIJEKOVA 33

M. Semijalac, N.Vučković, M.Medovarski, S.Stanešić, M. Strauss Patko
TRANSFUZIJSKA SLUŽBA U TRANSPLANTACIJI 34

M. Svetec, I. Humar
PRIKAZ BOLESNIKA S FENOTIPSKI HLA IDENTIČNIM PRESATKOM BUBREGA I POZITIVAN TEST REAKCIJE ODBACIVANJA POSREDOVANE CITOTOKSIČNIM LIMFOCITIMA T 34

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 8 5/14/2012 12:00:58 AM

SADRŽAJ

M. Sekol, E. Šarlija, B. Idžaković, Lj. Paović, J. Vojvodić, M. Tkalčić, M. Frntić, ...
NADZOR UPORABE OPASNIH KEMIKALIJA U ZAVODU ZA KLINIČKU KEMIJU I LABORATORIJSKU MEDICINU KB MERKUR U ZAGREBU, AKREDITIRANOM PREMA NORMI HRN EN ISO 15189:2008 35

H. Frketić,A. Brajenić, L. Matahlija, A. Dunat
HISTOKEMIJSKE METODE PRIKAZIVANJA FIBRINA: USPOREDBA TRIKROMNOG BOJANJA PO MASSONU I MARTIUSU 35

V. Medvidović, R. Peša, M. Pušić, B. Trbušić, T. Beus
CITOLOŠKE METODE DOKAZIVANJA KARCINOMA JAJNIKA 36

T. Bušić, R. Grabar, J. Simčić
USPOREDBA BIELSCHOWSKY i AgNOR METODE U PRIKAZU SENILNIH PLAKOVA KOD SENILNE DEMENCIJE TIPA ALZHEIMER 37

M. Matešić, J. Šerifović, Dž. Sijamhodžić, E. Pašić, I. Gobin
INTERAKCIJA BAKTERIJE ACINETOBACTER BAUMANNII I AMEBE ACANTHAMOEBA CASTELLANII 38

M. Potočnjak, M. Široka, D. Rebić, I. Gobin
UTJECAJ MIKROBIOTE NA PREŽIVLJAVANJE LEGIONELA 38

V. Matuš, N. Ivošević, Ž. Hundrić-Hašpl, Z. Kruhonja-Galić, N. Juraković Lončar, ...
NEUČINKOVITOST PROVOĐENJA RhD IMUNOPROFILAKSE U TREĆEM MILENIJU 39

J. Šerifović, M. Marković, M. Matešić, I. Maričić, D. Vučković, I. Gobin
COCULTURE OF AMOEBA ACHANTAMOEBA CASTELLANII AND BACTERIA CAMYPLOBACTER JEJUNI 39

I. Šutić, A. Bulog, V. Mićović
IMUNOLOŠKE PROMJENE STANOVNIKA U RAZVIJENIM INDUSTRIJSKIM PODRUČJIMA 40

POZVANO PREDAVANJE (CIJELI RAD)

S. Milenković
ARTEFAKTI U HISTOPATOLOGIJI ILI KO JE KRIV? 41

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 9 5/14/2012 12:00:59 AM

MOGUĆNOSTI HARMONIZACIJE PROGRAMA HRVATSKIH PREDDIPLOMSKIH STUDIJA BIOMEDICINSKO LABORATORIJSKE DIJAGNOSTIKE S PROGRAMIMA SRODNIH DIPLOMSKIH STUDIJA U EUROPSKOJ UNIJI

Lj. Glavaš-Obrovac

Medicinski fakultet Osijek, Sveučilište J.J. Strossmayera u Osijeku;
Klinički bolnički centar Osijek, Huttlerova 4, Osijek, Hrvatska

UNESCO-ova „Konvencija o priznavanju kvalifikacija u visokom obrazovanju“ osnova je za profesionalno priznavanje stečenih kvalifikacija u Europskoj uniji. Na hrvatskim sveučilištima provedena je reforma visokog obrazovanja utemeljena na tri glavna obrazovna ciklusa, tj. na prihvaćanju Bolonjske deklaracije, čime je omogućeno lakše uspoređivanje ne samo stečenih akademskih stupnjeva nego i ishoda učenja, usvojenih znanja i sposobnosti. Ovakav sustav visokog obrazovanja omogućava neprestano usavršavanje i cijelo-životno obrazovanje. U Hrvatskoj su se do nedavno inženjeri medicinsko-laboratorijske dijagnostike obrazovali isključivo u prvom ciklusu na stručnim studijima i time stjecali znanja koja su im omogućavala rad u medicinsko-biokemijskim laboratorijima na poslovima ograničene samostalnosti. Otvaranjem novih sveučilišnih preddiplomskih studija biomedicinsko-laboratorijske dijagnostike i tehnologije omogućeno im je napredovanje i nastavak studiranja na diplomskom studiju, te stjecanje akademskog zvanja magistra struke. Budući u Hrvatskoj trenutno nema diplomskog studija koji bi osposobio studenta medicinsko-laboratorijske dijagnostike za samostalni rad u laboratorijima visokoškolskih i zdravstvenih ustanova izuzetno je važno uskladiti programe domaćih preddiplomskih studija biomedicinsko-laboratorijske dijagnostike s programima srodnih diplomskih studija u Europi. Usporedbom programa različitih europskih diplomskih studija u području medicinsko-laboratorijske znanosti s programima hrvatskih preddiplomskih studija biologije, kemije, biotehnologije i biomedicinsko laboratorijske tehnologije ustanovljeno je da znanja i vještine koje steknu studenti na domaćim sveučilišnim studijima, ostvarenih 180 ECTS, kao i dobro znanje engleskog jezika dostatni su za nastavak obrazovanja na većini europskih sveučilišta. Kako bi se omogućilo studiranje u drugom ciklusu na domaćim sveučilištima izuzetno je važno raditi na pripremi programa diplomskog studija, ali i raditi na uvrštavanju stečene kvalifikacije u nacionalni okvir komparabilnih i kompatibilnih kvalifikacija.

RAISING THE PROFILE OF BIOMEDICAL SCIENTISTS IN EUROPE

M. Culliton

European Association for Professions in Biomedical Science

Biomedical Science is a hidden profession in Healthcare. Yet >70 % Clinical Decisions are based on the results of a diagnostic test.
This presentation will discuss the evolution of the profession and the role of the EPBS in promoting the role of Biomedical Scientist through internal and external marketing.
The area of laboratory medicine is very diverse. The scientists who work in these specialised fields are collectively called Biomedical Scientists. Within this diversity there is a core of study concentrating on the pathogenesis of disease.
Biomedical Scientists have key responsibilities in the pre and post analytical phases of the process in addition to their unique contribution in analysis.
Laboratory Medicine is about so much more than printed numbers on a page.
The true result of a laboratory investigation is knowledge. This transfer to knowledge is best achieved through close interaction between the examining clinician and all the providers within laboratory medicine, both the scientists and clinicians.

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 10 5/14/2012 12:00:59 AM

RANA DIJAGNOSTIKA RECIDIVA KARCINOMA MOKRAĆNOG MJEHURA: OD MOLEKULARNE DO HISTOLOŠKE DIJAGNOZE

A. Reljić[1], S. Davidović-Mrsić[2], J. Matić[3], B. Krušlin[3]

[1] KBC Sestre milosrdnice, Klinika za urologiju, Zagreb, Hrvatska
[2] KBC Zagreb, Zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Zagreb, Hrvatska
[3] KBC Sestre milosrdnice, Zavod za kliničku patologiju „Ljudevit Jurak“, Zagreb, Hrvatska

CILJ – Prikazati mogućnosti i definirati optimalni slijed pretraga u ranoj dijagnostici recidiva karcinoma mokraćnog mjehura te ispitati kvalitetu kirurških i histoloških postupaka.

METODE – Analizirani su nalazi 171 ispitanika (124 s recidivom bolesti i 47 zdravih u kontrolnoj skupini), a u svakog je učinjena citologija urina, fluorescentna in situ hibridizacija (FISH UroVysion test), intravenska urografija, cistoskopija i transuretralna resekcija (TUR) tumora mjehura te histološka analiza. Pored toga, analizirani su histološki nalazi 55 bolesnika u kojih je učinjena i ponovljena endoskopska resekcija tumora (re-TUR).

REZULTATI – FISH je značajno bolje osjetljivosti (p=0,001) i točnosti (p<0,001) u cijelom uzorku, i u skupini neinvazivnih (p<0,001) i loše diferenciranih (G3) (p=0,038) tumora. Specifičnost dvije metode se ne razlikuje (p=0,162). Od ukupno 234 TUR (179 TUR i 55 re-TUR) mišićni sloj mjehura nije dobiven resekcijom u 25,6% operacija (30,7% kod prve TUR i 9% kod re-TUR). Rezidualni tumor je bio prisutan u 27,2% ponovljenih resekcija, a 11,7% bolesnika drastično mijenja daljnji tok liječenja. U histološkim nalazima 6,8% njih ne sadrži podatak o tome da li je mišićni sloj prisutan (7,2% za prvu TUR i 16,3% za re-TUR).

ZAKLJUČCI – Savjetujemo FISH UroVysion test za nadzor bolesnika koji su imali G3 tumor dok korištenje istog testa može racionalno smanjiti učestalost kontrolnih cistoskopija. Moguće je poboljšati kiruršku tehniku TUR tumora mjehura kao i suradnju urologa i patologom o čemu u mnogome ovisi učinkovitost rane dijagnostike te bolesti.

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 11 5/14/2012 12:00:59 AM

ARTEFAKTI U HISTOPATOLOGIJI ILI KO JE KRIV?

S. Milenković

Služba kliničke patologije, Kliničko bolnički centar Zemun-Beograd, Srbija

APSTRAKT

Cilj ovog revijalnog prikaza je da ukaže na kritične tačke u patohistološkoj obradi uzoraka u kojima može doći do pojave artefakta i ukratko opiše najvažnije među stotinama mogućih artefakta. Prepoznavanje artefakta i poznavanje uzroka zbog kog nastaje je ključ dobre komunikacije između laboratorijskih tehničara i patologa u garant obezbeđenja kvalitetnog rada. Artefakti mogu biti podeljeni u dve grupe: artefakta koji nastaju pre obrade tkivnih preparata u patohistološku laboratoriju, a drugu grupu čine artefakti koji nastaju prilikom obrade tkivnih preparata u patohistološkoj laboratoriji. Na sistematičan način su opisani najvažniji artefakti kao i načini njihovog nastanka

ZAKLJUČAK

Savremene i modern tehnologije svakodnevno poboljšavaju kvalitet našeg rada. U međusobnoj komunikaciji laboratorijski tehničar i patolog moraju da ostvare najviši mogući novi saradnje kako bi izbegli zamke rutinskog posla. Preciznost kao posebno važna dimenzija uspešnosti rada u patohistološkoj laboratoriji najbolje rezultate donosi kada se kombinuje sa iskustvom.

Literatura

1. http://hr.wikipedia.org/wiki/Artefakt update 19:29, 6. listopada 2011.

2. Orlić M, Milenković S, Vojinović M. Medicinsko etički odnos lekara prema sebi i prema kolegama. Apolineum medicum et aesculapium. 2006;4(3-4):20-23.

3. Rolles OG, Farmer RJ, hall JB. Artifacts in Histological and Cytological Preparations. Sciencia Leica Microsystem Education Series, 2008

4. Milenković S, Jovanović-Zrilić S. Priprema tkiva za primenu imunohistohemije. Materia Medica 2008;24(3):33-40

5. Jovanovic MB, Milutinovic Z, Perovic J, Grubor A, Milenkovic S, Malobabic S.Vocal fold mucosa "blue lines" observed on contact telescopy at Reinke's edema. J Voice. 2009 Jul;23(4):512-5. (IF: 1.587)

6. Rolls G. 101 Steps to Better Histology. Melbourne: Leica Microsystems, 2008.

7. Wick RM, Mills CN, Brix WK. Tissue Procurement, Processing, and Staining Techniques.In Diag nostic Histochemistry, Ed. Wick RM, Cambridge University Press, 2006

8. Drury RAB, Wallington EA. Carleton's histological technique. 5th ed. New York: Churchill Livingstone, 1980.

9. Eltoum I, Fredenburgh J, Myers RB, Grizzle WE. Introduction to the theory and practice of fixation of tissues. J Histotechnol 2001;24;173 -190.

10. Winsor L. Tissue processing. In Woods A and Ellis R eds. Laboratory histopathology. New York: Churchill Livingstone, 1994;421 - 439.

11. Williams JH, Mepham BL, Wright DH. Tissue preparation for immunocytochemistry. J Clin Pathol 1997;50;422-428.

12. Carson FL. Histotechnology. 2nd ed. Chicago: ASCP Press, 1997.

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 12 5/14/2012 12:00:59 AM

PRAĆENJE KONCENTRACIJE C-REAKTIVNOG PROTEINA U BOLESNIKA S OPEKLINAMA

B. Trninić

KBC Sestre milosrdnice, Klinčki zavod za kemiju,
Klinička jedinica za medicinsku biokemiju u traumatologiji i ortopediji, Zagreb, Hrvatska

CILJ: Praćenje koncentracije C-reaktivnog proteina (CRP) u bolesnika s opeklinama, ovisno o veličini opeklinske ozljede (postotak opečene površine tijela-%TBSA) i ishodu bolesti (preživljenje/smrt).

METODE: Ispitali smo 72 bolesnika: skupina A (47 bolesnika s lakšim opeklinama ≤ 10% TBSA) i skupina B (25 bolesnika s umjerenim/težim opeklinama > 10% TBSA). Koncentracija CRP-a u serumu određena je imunoturbidimetrijskom metodom, 1., 3., 5., 7., 14. i 28. dana nakon ozljede, ovisno o dužini boravka u Klinici.

REZULTATI: Koncentracije CRP-a u skupinama s obzirom na veličinu ozljede (A i B) prvi dan su u referentnom rasponu i ne postoji značajna razlika među skupinama (P=0,892). Treći, peti i sedmi dan dobivene su razlike među skupinama (P<0,001; P<0,001; P=0,003), a koncentracije CRP-a su povišene u obje skupine. Četrnaesti i dvadesetosmi dan nije prisutna razlika među skupinama (P>0,10; P>0,10), koncentracije CRP-a i dalje su povišene. S obzirom na ishod bolesti preživjelo je 60 a umrlo 12 bolesnika. Prvoga dana među skupinama preživjeli/umrli nije dobivena razlika (P=0,640).Treći i peti dan prisutna je razlika među skupinama (P=0,002;P=0,004), a koncentracije CRP-a su više u bolesnika sa smrtnim ishodom. Sedmoga dana koncentracije CRP-a dalje su povišene, a razlika među skupinama je na granici značajnosti (P= 0,056). Četrnaestog dana dobivena je razlika među skupina u koncentracijama CRP-a, ali skupinu umrlih sačinjavaju samo tri bolesnika. Dvadeset osmi dan kod preživjelih koncentracija CRP-a je još povišena.

ZAKLJUČAK: Porast koncentracije CRP-a i njena povezanost s veličinom ozljede i ishodom bolesti ima dijagnostičku vrijednost i upučuje na potrebu učestalog određivanje koncentracije CRP-a.

MEHANIZAM PRIMARNE FAZE HEMOSTAZEA

B. Orehovec

KZZLD, KB Dubrava,Zagreb Hrvatska

HEMOSTAZA je proces zaustavljanja krvarenja iz oštećene krvne žile. Predstavlja ravnotežu između zgrušavanja krvi i održavanja krvi u tekućem stanju. Cijeli proces hemostaze je koordinirani učinak trombocita i brojnih faktora zgrušavanja, koji rezultira stvaranjem krvnog ugruška i zaustavljanja krvarenja. Hemostaza se dijeli na primarnu i sekundarnu hemostazu. Proces hemostaze započinje primarnom fazom u kojoj važne uloge imaju adhezija i agregacija trombocita. Nakon oštećenja krvne žile dolazi do njenog sužavanja, nakupljanja trombocita i formiranje trombocitnog (bijelog) čepa.Trombociti se aktiviraju ,mjenjaju oblik i počinju se oslobađati agonisti daljnje agregacije i određeni faktori koagulacije. Stvaranje trombocitnog čepa je ključni moment primarne faze hemostaze. Međusobno vezanje trombocita u trombocitnom čepu omogućuju adhezijski proteini i von Willerbrantov faktor koje luče aktivirani trombociti i endotel krvne žile. Poremećaji u primarnoj hemostazi su posljedica smanjenog broja i funkcije trombocita i kvalitativnog ili kvantitativnog nedostatka Von Willerbrantova faktora(vWF).
Najčešći laboratorijski testovi koji se koriste za praćenje primarne hemostaze su: broj trombocita, agregacija trombocita,vrijeme krvarenja, Von Willebrand-ov faktor i specijalni testovi za funkciju trombocita.

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 13 5/14/2012 12:00:59 AM

DOKAZ ANTIGENA NOROVIRUSA BRZIM IMUNOKROMATOGRAFSKIM TESTOM (AZOG NOROVIRUS TEST DEVICE)

Z. Ivančić, R. Pavetić, D. Jurić, S. Rečić, A. Cvitković, M. Tomić Paradžik

Zavod za javno zdravstvo Brodsko-posavske županije, Slavonski Brod, Hrvatska

CILJ: Dokaz antigena Norovirusa. brzim imunokromatografskim testom (AZOG NOROVIRUS TEST DEVICE). Norovirus je najčešći uzročnik epidemija nebakterijskog gastroenteritisa. Spada u porodicu Caliciviridae, a za čovjeka su patogena dva roda: Norovirus i Sapovirus.
Norovirus karakterizira niska infektivna doza, otpornost na utjecaje okoline i velika antigena varijabilnost. Najčešći put zaraze je fekalno oralni, konzumiranjem kontaminirane hrane i vode. Infekcije se najčešće javljaju u zatvorenim zajednicama (školama, domovima, bolnicama) u obliku epidemija.

METODE: Za dijagnostiku Norovirusa rutinski se koristi: enzimski imuno esej (EIA) test i PCR metoda. U našem mikrobiološkom laboratoriju koristimo se brzim imunokromatografskim testom (AZOG NOROVIRUS TEST DEVICE), koji se zasniva na detekciji antigena iz uzorka stolice (reakcija antigen-antitijelo).

REZULTATI: Rezultat se očituje pojavom obojenih linija na određenom polju testa. AZOG Norovirus test device je kvalitativni imunotest sa poprečnim protokom uzorka. Test koristi kombinaciju Geno grupe 1 i 2 specifičnih monoklonalnih antitjela kojima je premazana testna membrana. Ako je rezultat testa negativan, a klinički simptomi postoje, treba izvršiti testiranje drugom metodom, jer zbog velike genetske promjenjivosti može doći do pogrešno negativnog rezultata.

ZAKLJUČAK: Velika antigena varijabilnost Norovirusa je prepreka točnosti imunokromatografske dijagnostike. No, brzina i jednostavnost testa, daju potvrdu njegovoj primjeni osobito kod onih epidemija koje svojom simptomatologijom navode na sumnju o Norovirusu kao uzročniku.
Potvrda tomu je epidemija iz 2011. godine u našoj županiji, gdje smo prvi brzim imunokromatografskim testom detektirali Norovirus kao uzročnika, što je kasnije potvrđeno u referentnom laboratoriju PCR metodom.

Literatura

1. Valić J, Norwalk-like virusi- uzročnici na koje treba misliti, Hrvatski časopis za javno zdravstvo, 2005; 3(1): http://www.hcjz.hr/old/clanak.php?id=12596
2. Instruction for use, AZOG, INC. Norovirus test device (Stool)
3. Podsjetnik za infekcije s Norovirusima. Pokrajinska ustanova zdravlja, Odjeljenje za zaštitu protiv zaraze i zaštitu zdravlja i okoline (Land Brandenburg), 2007: http://www.brandenburg.de/six cms/media.php/4055/Merkblatt_Norovirus_serbo-kroatisch.pdf

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 14 5/14/2012 12:01:00 AM

MIKROBIOLOŠKA ČISTOĆA METODOM MEMBRANSKE FILTRACIJE

I. Regan

Imunološki zavod d.d. Zagreb, Hrvatska

U proizvodnji medicinskih proizvoda koji su namijenjeni za parenteralnu primjenu mora se osigurati da budu apsolutno sterilni i da zadovoljavaju sve zadane kriterije za njihovu kvalitetu. Zbog toga je potrebno primijeniti dodatne mjere opreza. Metodom membranske filtracije koja služi za motrenje mikrobiološke čistoće osigurava se kontrola, određivanjem ukupnog broja živih aerobnih mikroorganizama u mililitru testiranog proizvoda u tekućem stanju.
Tekući preparat izlijeva se pomoću sterilne pipete u plastični sterilni lijevak izrađen za jednokratnu upotrebu uz aparat za filtraciju ''Milliflex 100 test sistem'' Millipore. Pomoću peristaltičke pumpe aparata preparat se profiltrira kroz membranu integriranu na dnu lijevka. Nakon filtracije membrana se utisne u krutu hranjivu podlogu u ploči koja je oblikom i sastavom prilagođena sistemu. Očekuje se da će na ploči svaka bakterija ili gljiva iz inokuluma, koja se zadržala na membrani formirati koloniju. Kolonije se nakon inkubacije prebroje, a njihov se broj preračuna na mililitar (Colony forming unit -CFU/ml).
Broj mikroorganizama određuje se na podlogama triptikaza soja agar (TSA) i Sabouraud-dekstroza agar (SDA). Podloga se inkubira 5 dana na 30 – 35°C (TSA) i na 20 – 25 °C (SDA).
Rezultati se analiziraju prebrojavanjem poraslih kolonija, te se s obzirom na njihov povećan broj od zadanih vrijednosti izdaju razine upozorenja koje pokazuju odmak od normalnih operacijskih uvjeta uz provođenje temeljite istrage da se utvrdi mogući izvor kontaminacije.

Literatura

1. 2008 European Guide to Good Manufacturing Practice. Annex 1. Manufacture of sterile medicinal products

2. Lucia Clontz, 2008. Microbial limit and bioburden test: validation approaches and global requirements

TIPIZACIJA HLA U DIJAGNOSTICI BOLESTI - ANALIZA PODATAKA 2011 G.

K. Kopić, Ilievski, Sviličić, Prpić, Balog

KBC Zagreb, Zagreb, Hrvatska

Glavni sustav tkivne podudarnosti u čovjeka (Human Leukocyte Antigen, HLA) je genski sustav koji sadrži velik broj gena s imunološkom funkcijom. Istraživanja su pokazala da geni sustava HLA predstavljaju najvažnije genetske čimbenike za razvitak mnogih reumatskih i autoimunih bolesti. Tako je npr. dokazana povezanost ankilozantnog spondilitisa s alelom HLA-B27, reumatoidnog artritisa s alelima HLA-DR1 i DR4, psorijaze s HLA-C6 i celijakije s heterodimerima DQ2 i DQ8.

CILJEVI: Analizirati rezultate tipizacije HLA u bolesnika upućenih na ovu pretragu u dijagnostičke svrhe tijekom 2011 godine.

METODE: Određivanje antigena HLA provedeno je ili serološkom metodom mikrolimfocitotoksičnosti (MLCT) ili molekularnom metodom lančane reakcije polimerazom i specifičnih početnica (PCR-SSP).

REZULTATI: Tijekom 2011.g. upućeno je 3185 bolesnika. Najčešća uputna dijagnoza (N=2100, 66%), bila je neka od bolesti mišićno-koštanog sustava i vezivnog tkiva (MKB: M00-M99).
Ukupno su ispitana 132 bolesnika s uputnom dijagnozom ankilozantni spondilitis (AS), a prisustvo alela HLA-B27 je pronađeno u 33 (25%) bolesnika.
S uputnom dijagnozom reumatoidni artritis ukupno je tipizirano 405 bolesnika, od čega ih je 127 (31%) bilo pozitivno za jedan ili oba podložna alela HLA.

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 15 5/14/2012 12:01:00 AM

Ukupno je ispitano 25 bolesnika s psorijazom kao uputnom dijagnozom, a alel HLA-C*06 je pronađen u 5 (20%) bolesnika.
.Na određivanje prisutnosti rizičnih heterodimera zbog sumnje na celijakiju upućene su ukupno 164 osobe. Nalaz je bio pozitivan u 82 (50%) bolesnika.

ZAKLJUČAK: Tipizacija HLA određivanjem genetske podložnosti za bolest može predstavljati značajan dodatni dijagnostički parametar, a određivanje rizične populacije koristi u prevenciji bolesti.

RASPODJELA ALELA SUSTAVA HLA KOD KADAVERIČNIH DARIVATELJA ORGANA U REPUBLICI HRVATSKOJ

S. Salamunović, D. Sviličić, D. Čleković, R. Žunec

KBC-Zagreb, Zagreb, R.Hrvatska

Određivanje alela HLA primjenjuje se u transplantaciji tkiva i organa, dijagnostici bolesti, sudskoj medicini i antropološkim istraživanjima. Transplantacija organa je uspješnija tj. odbacivanje transplantata rjeđe što je stupanj podudarnosti HLA para primatelj-davatelj veći. Jedan od glavnih kriterija odabira primatelja organa u Eurotransplantu je podudarnost u alelima HLA-A, -B i -DRB1, te se stoga svi kadaverični darivatelji organa obavezno tipiziraju za alele tih lokusa HLA.
U ovom radu istraživana je raspodjela alela lokusa HLA-A, -B i -DRB1, omjer heterozigota i pretpostavljenih homozigota unutar skupine od 200 kadaveričnih darivatelja organa. Dobiveni rezultati uspoređeni su s podacima drugih zemalja članica Eurotransplanta.
Svim ispitanicima uzeto je 3 ml periferne krvi iz koje je izolirana DNA pomoću komercijalnih setova. Aleli testiranih lokusa HLA određeni su metodom lančane reakcije polimerazom i početnicama specičnim za određeni alel ili skupinu alela HLA (Polymerase Chain Reaction - Sequence Specific Primers, PCR-SSP).
Najučestaliji aleli testiranih lokusa bili su: HLA-A*02 (50,5%), -B*35 (26,5%), -DRB1*11 (27,5%). Omjer heterozigota i pretpostavljenih homozigota za lokuse HLA-A, -B i -DRB1 bio je približno 2:1 (69,0% : 31,0%). Od tri testirana lokusa HLA za homozigotnost, najviše pretpostavljenih homozigota uočeno je na lokusu HLA-A (51,6%), dok je samo jedan (1,6%) kadaverični darivatelj organa bio homozigot za alele lokusa HLA-A, -B i –DRB1.
Učestalost pretpostavljenih homozigota po lokusima pratila je raspodjelu učestalosti alela HLA. Usporedba raspodjele alela HLA između naše populacije i populacija ostalih zemalja članica Eurotransplanta pokazala je statistički značajno povišenu učestalost alela: HLA-DRB1*16 (P<0,0001), HLA-B*07 i HLA-B*18 (P<0,001) među našim ispitanicima.

VELIKI REZOVI U PATOLOGIJI DOJKE

B. Karaula, Lj. Ratkajec

Klinički bolnički centar,Klinički zavod za patologiju i citologiju, Zagreb, Hrvatska

CILJ: Neopipljivi tumori dojke više nisu iznimka jer se otkrivaju mamografskim pregledom. Uzimanje uzorka za mikroskopski prgled ne oslanja se više na oči i ruke patologa već na suradnju radiologa, onkologa, kirurga i patologa koristeći zadane protokole.

METODA: Tehnika velikog reza ima prednost pred standardnim rezovima u očuvanju izvorne morfološke povezanosti lezije s okolnim tkivom u jednom prerezu. Ne produžava izdavanje nalaza jer koristeći izopropilni alkohol lako se odstrani voda iz tkiva. Rezovi se dobivaju na mikrotomu za izradu velikih rezova. Preparati se boje standardnom metodom hemalaun eozina bilo ručno ili u aparatu. Moguće je i imunohistokemijsko bojenje radi određivanja statusa steroidnih receptora i HER-2/neu uzimanjem ciljanih dijelova tumora iz velikog reza.

REZULTAT: Velikim rezovima moguće je vidjeti tumor sa okolnim tkivom te odrediti udaljenost tumora od kirurških rubova. Osim toga mogu se otkriti i multicentrični tumori (više tumora u istom uzorku), te odrediti proširenost neinvazivnih tumora što se klasičnim rezovima nemože.
Zaključak: Pregledom tkiva dojke obrađenog na ovaj način se najučinkovitije povezuje radiološki nalaz sa histološkim pregledom.

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 16 5/14/2012 12:01:01 AM

ANTIGANGLIOZIDNA ANTITIJELA U DIJAGNOSTICI NEUROPATIJA

M. Trbojević-Ćepe, E. Stanković

KBC Rebro, Zagreb, Hrvatska

CILJ: Neuropatije su kronične ili akutne upale periferni-ih živaca različite etiologije. Mogu biti nasljedne, infektivne ili autoimune prirode. Razni neuropatski sindromi često imaju slične simptome. Gangliozidi su smješteni u vanjskom sloju stanične membrane. Različiti su po strukturi, brojnosti i razmještaju u živčanom sustavu. Antigangliozidna antitijela smatraju se potencijalno patogenim čimbenicima u nizu neuropatija i njihova dijagnostika upućuje na ciljano liječenje. Cilj je utvrđivanje profila antigangliozidnih antitijela u serumu ispitanika sa različitim neuropatskim sindromima uključujući i Guillain–Barreov sindrom (GB-sindrom). GBS je akutna neuropatija imunološkog podrijetla koja nastupa naglo sa slabošću udova, gubitkom osjeta uz lošu prognozu.

METODE: Korištenjem Ganglio Combi Elisa testa dokazujemo IgG/IgM antitijela na šest najčešćih gangliozida.

REZULTATI: Rezultati analize izražavaju se kao postotni udio visoko pozitivnog GM1 kalibratora i karakterizirani su kao: negativni, granični pozitivni i jako pozitivni. Rezultati upućuju na povezanost određenih kliničkih značajki neuropatija i određenog tipa antigangliozidnih antitijela.

ZAKLJUČAK: Dijagnostika autoimunih neuropatija oslanja se na uporabi testova za određivanje antigangliozidnih antitijela, a to je važno zbog pristupa liječenju.Pozitivna antigangliozidna antitijela upućuju isključivo na GB-sindrom, a tada se postupak liječenja bazira na imunosupresivnoj terapiji i plazmaferezi što pridonosi uspješnosti liječenju.

EPIGENETIKA: PRIMJENA U HEMATOPATOLOGIJI

T. Gudelj, S. Hančić, P. Korać, S. Gašparov, M. Dominis

KB Merkur, Zagreb, Hrvatska

Epigenetika se bavi izučavanjem mehanizama koji utječu na aktivnost gena, a koji nisu kodirani unutar same DNA sekvence; na neki način epigenetika predstavlja mehanizam dodatnog nivoa kontrole informacija koje se nalaze zapisane u DNA.
Danas je poznato koje molekularne strukture sudjeluju u epigenetičkim procesima: jedan važan faktor su histoni, pakirajući materijal oko kojeg je namotana DNA . Način i proces kojim je DNA upakirana u stanice uvelike je odgovoran za način njezinog funkcioniranja. Proces sažimanja, tj. pakiranje DNA na određen način koji ne zauzima puno mjesta u stanici, zasnovan je na omatanju nukleinske kiseline oko histona (H1, H2A, H2B, H3 i H4), proteinskih podjedinica na koje mogu biti vezane različite skupine. Ovisno o tome koju kemijsku grupu nose, jesu li acetilirani ili metilirani, oni reguliraju aktivaciju ili represiju gena odgovornih za rad organizma na staničnoj razini. Epigenetički procesi su odgovorni i za nastanak mnogih bolesti, od raznih oblika limfoma pa sve do razvojnih poremećaja.
Imunohistokemijskim bojanjem na 138 preparata biopsija želuca s dijagnozom MALT limfoma te uz primjenu antitijela anti-H3K27me3 proučavali smo razinu represije transkripcije u tumorskim stanicama te koristeći antitijelo anti-FOXP3 primjetili veći broj FOXP3 limfocita u slučajevima tumorskog tkiva sa smanjenom produkcijom H3K27me3.
Uvidjeli smo važnost detektiranja epigenetičkih biljega u limfomima i pokazali da je detekcija takvih epigenetičkih obilježja moguća u rutinskom histopatološkom laboratoriju.
Istraživanja u području epigenetike, primjene novih, epigenetskih pristupa u liječenju, a posebno u području razvoja “pametnih”, epigenetičkih lijekova, u uzlaznoj su putanji koja još uvijek nije dosegla svoj vrhunac, ali svakako predstavlja blisku budućnost i ukazuje na potrebu za razvijanjem metodologija koje bi pridonijele dijagnostici i praćenju limfoma.

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 17 5/14/2012 12:01:01 AM

SMRZNUTI REZOVI: HISTOTEHNOLOŠKI PRISTUP

J. Matić, M. Kos

Klinički zavod za patologiju ''Ljudevit Jurak'', KBC ''Sestre milosrdnice'', Zagreb, Hrvatska

Tkivo uzorkovano u svrhu patohistološke dijagnostike bolesti mora biti procesuirano u histopatološkom laboratoriju. Izrađuju se histološki rezovi, koje patolozi dijagnosticiraju pod svijetlosnim mikroskopom. Histotehnolozi bacc.med.lab.diagn.i zdr.lab.teh. su djelatnici koji rade hitne smrznute rezove, tijekom operacijskih zahvata kada je potrebno učiniti brzu dijagnostiku na tkivu zahvaćenom patološkim procesom. Pretraga se radi, kada kirurg želi znati dali je postojeća lezija benigna ili maligna, te jesu li rubovi lezije zahvaćeni bolešću.
Takva brza dijagnoza postavlja se na smrznutim rezovima. Zamrzavanje čini tkivo dovoljno tvrdim da se može rezati na mikrotomu u aparatu koji se zove kriostat. Temperatura unutar kriostata je od -20°C do -30°C, a odabire se ovisno o vrsti tkiva.
Tkivo se reže na debljinu od 6 – 8 mikrona, stavlja se na silanizirano predmetno stakalce i boji rutinskom metodom bojanja hemalaun i eozin (HE), što traje tek nekoliko minuta kod hitnih smrznutih rezova. Takvi rezovi se boje ručno, jer je metodologija brža za jedan rez ili nekoliko pojedinačnih rezova.Na taj način štedi se vrijeme tehnološkog postupka a ostavlja više vremena patologu za postavljanje dijagnoze.
Od trenutka zaprimljenog intraoperativnog materijala u laboratorij, tehnološki postupak i postavljanje dijagnoze treba se učiniti u roku 20 min.
Tkivni prerezi pokrivaju se medijem kao što su sintetske smole, na koje se stavlja pokrovno stakalce. Na taj način sprječava se oštećenje tkiva, omogućuje bolja optička kvaliteta gledanje pod mikroskopom, tako se tkivo čuva i arhivira.
Hitne biopsije dijagnosticiraju patolozi dajući informaciju kirurgu o patohistološkoj dijagnozi koja određuje daljnji tijek operativnog zahvata.
Smrznuti rezovi imaju veliku važnost u hitnoj kirurškoj dijagnostici.

KARCINOM DOJKE-HERCEP TEST-HERCEPTIN

M. Glavota, V. Blažičević, P. Balić, M. Markasović, B Tijardović

Klinički zavod za patologiju i sudsku medicine KBC Osijek, Hrvatska

CILJ : Najčešća zloćudna bolest žena je karcinom dojke, a kako on pokazuje značajne razlike u svom ponašanju od iznimne je vrijednosti otkriti pokazatelje prognoze, tijeka i ishoda bolesti. Jedan od novijih čimbenika je prekomjerna izraženost HER2/NEU koja je povezana s lošijom prognozom bolesnica. Cilj istraživanja je bio odrediti status HER2 receptora u tkivu karcinoma dojke.

METODA : Analizirano je 212 uzoraka karcinoma dojke bolesnica u dobi od 26-85 godina imunohistokemijskim (IHK) bojanjem na automatskom imunobojaču "˘AUTOSTEINER" DAKO upotrebom Hercep Testa koji ima standardizirane uvjete bojanja i omogućuje objektivnu procjenu rezultata. Hercep Test je polukvantitativan test koji prikazuje membransko bojanje HER2/NEU tumorske stanice. Test ima dva stupnja reakcije : 1. Aplikacija primarnog poliklonalnog zečjeg AT visoke čistoće i specifičnosti protiv ljudskog HER2/NEU i 2.stupanj – aplikacija EnVision reagensa. Vidljivost nastale reakcije daje kromogen supstrat čiji je intenzitet obojenja proporcionalan broju HER2 receptora. Uz svako bojanje koristi se kontrolno stakalce na kojem se nalazi tkivni rez s različitim nivoom pojavnosti HER2/NEU (0,1+, 3+).

REZULTAT: U 2011.godini analizirano je 212 uzoraka od kojih je : NEG 0 →123 (58.1 %), NEG 1+→26 (12.3 %), SLABO POZ 2+ →21 (9.9%) i
JAKO POZ 3+→42 (19.8%).

ZAKLJUČAK: Bojanje Hercep Testom je pouzdana IHK metoda u određivanju HER2/NEU i vrijedan pokazatelj kliničaru za odabir terapije bolesnica (status HER2/NEU 3+). Prvi je primjer veze terapije i molekularne dijagnostike u onkologiji. Jedini je test prihvaćen od FDA pri odabiru bolesnica u liječenju HERCEPTINOM (dobra protutumorska aktivnost).
S HERCEPTINOM I CILJANOM TERAPIJOM DO BOLJEG PREŽIVLJENJA.

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 18 5/14/2012 12:01:01 AM

VRIJEDNOST I ZNAČENJE CITOKEMIJSKE PERIODIC ACID-SCHIFF (PAS)-REAKCIJE U ONKOLOŠKOJ CITOLOGIJI

S. Šlegl, M. Jalšovec, I. Miše, S. Grbin, J. Mandžo, M. Horvat

Klinička jedinica za citologiju, Zavod za kliničku patologiju "Ljudevit Jurak", KBC "Sestre milosrdnice", Zagreb, Republika Hrvatska

CILJEVI: Cilj ovog preglednog rada je ukazati na značaj PAS-reakcije u kompleksnom području onkološke citodijagnostike koja čini većinu rutinskog rada našeg laboratorija.

METODE: Neenzimatskom PAS-reakcijom bojaju se i dokazuju stanični ugljikohidrati, locirani u membrani, citoskeletu, citoplazmičnim zrncima i vakuolama, kako jednostavni (glikogen) tako i složeni u spojevima s drugim makromolekulama (glukoproteidi). Temelji se na oksidacijskom djelovanju perjodne kiseline na glikolne skupine glukoze i oslobađanju aldehidnih skupina koje se boje fuksin-sumpornom kiselinom (Schiffov reagens). Nastaje složeni grimizno-ljubičasti spoj čijom mikroskopskom analizom distribucije i intenziteta (granularno, grudičasto, difuzno) definiramo stanično porijeklo odnosno značenje.

REZULTATI / PREGLED: Citoplazme atipičnih blasta u akutnoj mijeloičnoj i limfatičnoj leukemiji (AML i ALL) su PAS-pozitivne; u ALL-u (L1,L2) se glikogen prikazuje različito grudičasto, u AML-u (najčešće M5) većinom difuzno ružičasto, a u M6 su difuzno PAS-pozitivni maligni eritroblasti. Atipični limfociti u kroničnoj limfocitnoj leukemiji su PAS-pozitivni što ju razlikuje od Non-Hodgkin limfoma malih stanica. PAS-pozitivne atipične plazma stanice ekstramedularnog plazmocitoma diferenciraju ga od drugih neoplazmi s "plasma-like" stanicama. Stanice nekih dječjih solidnih tumora (Ewingov sarkom, rabdomiosarkom) su PAS-pozitivne što ih može razlučiti od akutnih leukemija i limfoma. Nakon tretiranja pleuralnog izljeva dijastazom, PAS-reakcija je u mezoteliomu negativna dok u adenokarcinomu ostaje pozitivna (prisutan epitelni mucin). PAS-pozitivna reakcija u stanicama hipernefroma i disgerminoma može razlikovati iste od drugih malignoma.

ZAKLJUČAK: Unatoč molekularnim tehnikama i imunocitokemiji, PAS-reakcija je nezaobilazna metoda citodijagnostike s prednostima u jednostavnosti i brzini izvođenja, cijeni i reproducibilnosti te najvažnije - brzoj informaciji o staničnom sastavu čime doprinosi u razlučivanju tipa, porijekla i značenja biološki kompleksnih zloćudnih stanica u hemoblastozama i onkološkoj citologiji.

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 19 5/14/2012 12:01:01 AM

IN SITU HIBRIDIZACIJA

K. Ražnjević

Klinički zavod za patologiju i citologiju, Klinički bolnički centar Zagreb, Zagreb, Hrvatska

In situ hibridizacija (ISH) postala je nezaobilazna metoda u dijagnostici različitih zloćudnih bolesti, osobito karcinoma dojke i limfoproliferativnih bolesti. Na karcinomima dojke rutinski se imunohistokemijskim bojenjem na HER2/neu (DAKO) analizira ekspresija proteina i intenzitet pozitivne reakcije, što ima izravan prognostički i terapijski utjecaj za oboljele osobe. Za tumore s intenzitetom reakcije 2+ neophodna je dodatna obrada metodom Silver In Situ Hibridizacije (SISH) za analizu amplifikacije gena HER2/neu.
Kod sumnje na zloćudnu limfoproliferativnu bolest i za klasifikaciju različitih limfoma važno je utvrditi postojanje Epstein-Barr virusa (EBV) u bioptičkom materijalu dokazivanjem virusne RNA (Epstein-Barr encoded RNA, EBER).
Razvojem automatiziranih sustava za izvođenje ove metode značajno se skratilo vrijeme izrade preparata te istodobno povećana osjetljivost i specifičnost reakcije. Prikazana su iskustva s uporabom BenchMark Ultra aparata na Kliničkom zavodu za patologiju i citologiju, KBC Zagreb te usporedba kvalitete preparata dobivenih automatiziranim postupkom in situ hibridizacije u aparatu BenchMark Ultra i ručnim postupkom koji se primjenjivao prethodnih godina. Za metodu SISH koristi sa HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail, a za vizualizaciju hibrida ultraView Silver ISH DNP Detection Kit i ultraView Red ISH DIG Detection Kit . ISH za EBV izvodi se probom EBER 1 DNP, a vizualizacija hibrida pomoću ISH iVIEW Blue Detection Kit. Automatizirani postupak u Benchmark Ultra aparatu uključuje deparafinaciju, denaturaciju i hibridizaciju ispitivanih uzoraka.
Uporabom automatizirane metode ISH postupak je skraćen s 48 sati na 6-12 sati. Osim toga omogućeno je detektiranje niskog stupnja amplifikacije gena HER2/neu, a kod reakcije EBER pozitivni signal je precizniji, što smanjuje mogućnost lažno pozitivne interpretacije. Analiza očuvanosti RNA u tkivu smanjuje opasnost od lažno negativnih nalaza

TROMBAFEREZE-DOBIVANJE KONCENTRATA TROMBOCITA OD JEDNOG DAVATELJA

V. Čegec, V. Cipek, Č. Maglov

HZTM, Zagreb, Hrvatska

CILJ: Prikaz dobivanja koncentrata trombocita na staničnom separatoru,postignuća i poboljšanja u radu.

METODE: Stanični separator - automatiziran aparat kojim se iz periferne krvi, uspostavom izvantjelesne cirkulacije izdvajaju pojedini sastojci krvi, dok se ostala krv vraća u cirkulaciju. Povijest afereza s obzirom na vrste koje se provode u svijetu. Prikaz rada afereza u HZTM-u od 1983. pa do danas. Metode uzimanja pojedinih krvnih sastojaka (trombocita, plazme) sa posebnim zančajem na pripravak koncentrata trombocita.

REZULTATI: Neke od najčešćih nesukladnosti vezane uz darivanje krvi na staničnom separatoru (od 2009.-2011.) su povišeni leukociti sa 2,06% smanjeni na 1,63%, lipemije smanjene sa 1.39% na 0,64% te greške u radu sa 1,27% na 0,70%. Broj proizvednih doza koncentrata trombocita u HZTM u 2010./2011. godini. 23% na staničnom separatoru dok je 77% proizvedeno iz pune krvi-pool IV doze. Budućnost - tendencija povečanja pool-a davatelja na staničnom separatoru. Praćenjem u proteklih 10 godina bilježimo značajan porast broja novih darivatelja krvi (2002. novih 94, dok u 2011. 139 DDK). Značajno smanjenje lipemija između ostalog je posljedica edukacije DDK koju provodi osoblje na staničnom separatoru.

ZAKLJUČAK: Aferezama se od 1 dobrovoljnog davatelja krvi može prikupiti veća količina određenog krvnog sastojka koji se kao takav smatra boljim izborom u liječenju djece i hematoloških bolesnika (smanjena mogućnost imunizacije).
Važnost planiranja zaliha sukladno potrebama zbog kratkog roka trajanja koncentrata trombocita (5 dana).

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 20 5/14/2012 12:01:02 AM

PROIZVODNJA KONCENTRATA TROMBOCITA U HZTM

T. Karaula, Ž. Lubina, M. Semijalac, M. Strauss Patko

Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu, Zagreb, Hrvatska

CILJ: Prikazati metodu proizvodnje „pool"-ova koncentrata trombocita (KT) iz slojeva leukocita i trombocita (L i T) sa smanjenim brojem leukocita korištenjem setova sa ugrađenim filterom za uklanjanje leukocita.

METODA: Proizvodnja koncentrata trombocita radi se u dvije faze. U prvoj fazi, pomoću aparata za automatsko razdvajanje krvi/krvnih pripravaka, puna krv razdvaja se na koncentrat eritrocita, plazmu i sloj L i T, unutar 6 sati od uzimanja krvi. Sljedeći dan rade se pool-ovi iz 4 sloja L i T i 1 doze pripadajuće plazme identične KG i Rh faktora. Pri tome se koriste setovi za puliranje koji imaju ugrađen filter za uklanjanje leukocita koji omogućuje tzv. „prestorage" leukofiltraciju. Ovakvi trombocitni pripravci zadovoljavaju prosječne zahtjeve odraslog bolesnika i spremni su za izdavanje.

REZULTATI: Rutinskom kontrolom kvalitete pool-ova KT za 2011. godinu dobiveni su sljedeći rezultati: broj trombocita po dozi u pool -u (x1010) : 8,78±1,11; broj leukocita po dozi u pool-u (x106): 0,036±0,2; volumen po dozi u pool-u (ml): 48±7 ; pH u pool-u 7,5±0,05.

ZAKLJUČAK: Automatizacijom u proizvodnji KT i korištenjem setova za puliranje sa ugrađenim filterom za uklanjanje leukocita dobivaju se izuzetno kvalitetni i standardizirani pool-ovi KT sa visokim brojem trombocita i niskim ostatnim leukocitima u pripravku. Takvi trombocitni pripravci spremni su za izdavanje odmah po primitku narudžbe.

AUTOMATIZIRANI PREDANALITIČKI SUSTAVI U LABORATORIJSKOM PROCESU

V. Cvjetković, V. Fazlović

Djelatnost za laboratorijsku dijagnostiku, OB Pula, Pula, Hrvatska

CILJ: Kvaliteta i sigurnost laboratorijske dijagnostke od ključne su važnosti pri promicanju cjelokupne zdravstvene zaštite. Podjelom laboratorijske dijagnostike na predanalitičku, analitičku i postanalitičku fazu olakšano je praćenje cjelokupnog laboratorijskog procesa i pojava mogućih pogrešaka. Kako vrlo velik broj dokaza govori u prilog tome da je predanalitička faza najkritičniji dio procesa nastanka nalaza, cilj nam je prikazati prednosti primjene automatiziranih predanalitičkih sustava u cjelokupnom laboratorijskom radu, čime je znatno olakšano i detektiranje mogućih pogrešaka.

METODA: Upotreba potpunih automatiziranih sustava ili onih modularnih u predanalitičkoj fazi laboratorijskog procesa uvjet je za stalno unapređivanje kvalitete rada i smanjivanje pogrešaka. U potpunosti su prilagodljivi svim oblicima i zahtjevima laboratorijskog rada i obično uključuju integrirane sustave unošenja različitih vrsta uzorka i epruveta, transporta do radnih jedinica, centrifugiranja, otvaranja epruveta, uzimanja manjih količina uzoraka i raspodjelu prema radnim mjestima, ljepljenje dodatnih barkodova, zatvaranje epruveta, pohranu i slaganje primarnih epruveta. Osim toga, predanalitički sustavi samostalno detektiraju prisustvo lipemije, bilirubinemije i hemolize, te vrlo jednosatvno omogućuju pristup primarnom uzorku u svakom trenutku.

REZULTATI: Automatizacijom svih faza laboratorijskog procesa, a osobito predanalitičke faze postiže se povećanje produktivnosti, smanjenje broja zaposlenika, smanjenje ukupnih troškova, te potpuna sljedivost u izradi laboratorijskih pretraga. Značajno se smanjuje vrijeme izrade pretraga, mogućnost pogrešaka pri alikvotiranju i obilježavanju uzoraka.

ZAKLJUČAK: Standardizacijom cjelokupnog laboratorijskog procesa, a primjenom konsolidacije i integracije s biokemijskim i imunokemijskim analizatorima, omogućuje se pravovremeno prepoznavanje pogrešaka, te postizanje veće kvalitete laboratorijske dijagnostike.

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 21 5/14/2012 12:01:02 AM

ZAŠTO BITI LABORATORIJSKI TEHNIČAR PATOHISTOLOŠKOG USMERENJA?

S. Dragović, V. Majstorović

Služba kliničke patologije, Kliničko bolnički centar Zemun, Srbija

CILJ: Cilj ovog revijalnog prikaza je da prikaže posebnosti patohistološke laboratorije u odnosu na druge laboratorije i značaj dobro edukovanih laboratorijskih tehničara patohistološkog usmerenja u obavljanju patohistološke prakse.

METODE: Primenjen je sistematski pregled literature u elektronskim bazama PubMed, Science Direct, Open Acess po ključnim rečima: laboratorijski tehničar, patohistološka laboratorija, značaj, edukacija, odgovornost.

REZULTATI: Klinički laboratorijski tehnolog, klinički laboratorijski tehničar ili medicinski laboratorijaki tehničar su sinonimi koji se koriste za opis radnih mesta u medicinskim patohistološkim laboratorijama. Histopatološke laboratorije su jedinstvene po svojoj strukturi i uslugama koje pružaju. Uzorci koji se obrađuju su solidni, heterogeni, često diskretni i najčešće bez mogućnosti ponovnog uzimanja. U histopatološkoj laboratoriji se primenjuju procedure koje su vrlo uniformne i manje od 30% svih procedura su automatizovane. Proces rada je fazni i histotehničari rade timski. U patohistološkoj laboratoriji samo mali broj analiza se kvantifikuje, a većina se kvalifikuje na osnovu mikroskopskih promena u tkivu. Laboratorijski tehničari patohistološkog usmerenja moraju da poseduju mnoga znanja iz oblasti biologije tkiva i ćelije, hemije u smislu znanja strukture i karakteristika supstanci, matematike i da se stalno i kontinuirano usavršavaju i u smislu struke, ali u smislu kompjuterskih tehnologija i poznavanja engleskog jezika.

ZAKLJUČAK: Da bi se razumela posebnost histopatoloških laboratorija neophodno ih je uporediti sa drugim vrstama medicinskih laboratorija. Posebnost uzorka, broj procedura, rezultata, instrumenata, procesa rada, neophodnost donošenja trenutnih odluka su posebnosti koje patohistološku laboratoriju izdvajaju od drugih laboratorija.

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 22 5/14/2012 12:01:02 AM

GOSPODARENJE BIOMASOM I PROIZVODNJA ENERGIJE POSREDSTVOM BIOPLINA – "WASTE TO ENERGY" SUSTAV

D. Brdarić[1], D. Kralik[2], S. Rudan[1], M. Valek[1], Đ. Mihić[2], Ž. Bajto[1], M. Šimović[1]

[1]Zavod za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije, Osijek, Hrvatska
[2]Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet, Osijek, Hrvatska

CILJEVI: Biomasa može biti biljnog i životinjskog porijekla. Obuhvaća šumsku i poljoprivrednu biomasu, nusprodukte različitih industrija, komunalni otpad, otpad koji nastaje pri pročišćavanju voda i kanalizacijskog mulja. Biomasa je najstariji izvor energije koji su ljudi koristili, danas je obnovljivi izvor energije i može pridonijeti zaštiti okoliša, otvaranju novih radnih mjesta i gospodarskom razvitku cijele zemlje. Fosilna goriva (ugljen, nafta, zemni plin) imaju ograničene rezerve i sve ih je manje. Za razliku od njih, obnovljivi izvori energije uz pravilno gospodarenje osiguravaju neiscrpan izvor energije. Biomasa se koristi u proizvodnji bioplina anerobnom digestijom. Stoga je cilj ovoga rada prikazati prednosti korištenja biomase kao izvora energije.

METODE: Bioplin nastaje anaerobnom razgradnjom organske tvari u digestoru pod utjecajem metanskih bakterija. Količina i sastav razvijenog bioplina ovisi o bakterijama tj. o brzini njihovog razvijanja u organskom supstratu. U radu su korišteni podaci iz dostupne stručne i znanstvene literature koji ukazuju na prednosti izgradnje susutava za korištenje biomase kao energije.

REZULTATI: Krajnji rezultat je proizvodnja električne i toplinske energije iz organskog otpada, tj. biomase, te doprinos u zaštiti i očuvanju eko-sustava.

ZAKLJUČAK: Korištenjem obnovljivih izvora energije i adekvatnim gospodarenjem biomasom pozitvno utječemo na okoliš i zdravlje. Glavna prednost biomase kao energenta u odnosu na fosilna goriva je obnovljivost, te manja emisija štetnih plinova i manja količina otpadnih voda. Organski otpad postaje energent u proizvodnji energije i zauzima ključno mjesto u održivom razvoju. U svijetu trenutno 96% ukupnog udjela biomase trune i stoji neiskorišteno.

PROIZVODNJA BIOPLINA IZ SMJESE KLAONIČKOG OTPADA I SVINJSKE GNOJOVKE

D. Brdarić[1], D. Kralik[2], S. Rudan[1], M. Sikora[1], M. Kovačević[1], V. Bertić[1], D. Jovičić[2]

[1]Zavod za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije, Osijek, Hrvatska
[2]Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet, Osijek, Hrvatska

CILJEVI: U industrijskoj i poljoprivrednoj proizvodnji nastaju velike količine organskog otpada. Loše gospodarenje klaoničkim otpadom i svinjskom gnojovkom predstavlja opterećenje za okoliš i zdravlje. Biomasa predstavlja jedan od obnovljivih izvora energije i može se upotrijebiti u proizvodnji električne i toplinske energije posredstvom bioplina koji se dobiva anaerobnom razgradnjom ili fermentacijom organskog otpada.

METODE: Korišteni su uzorci svinjske gnojovke s 10%-tnim dodatkom klaoničkog otpada. Za kontrolnu skupinu korištena je svinjska gnojovka bez dodataka. Istraživanje je postavljeno u diskontinuiranom bioreaktoru pri mezofilnim uvjetima (40°C) s četiri ponavljanja. Klaonički otpad sastoji se od buraga i svinjskih crijeva u omjeru prosječne količine s linije klanja. Proizvedeni plin analiziran je plinskim kromatografom Varian 3900 prema metodi HRN ISO 6974-4:2000. Plinskom kromatografijom detektiran je udio metana, dušika i ugljikovog dioksida.

REZULTATI: Količina metana u smjesi klaoničkog otpada i svinjske gnojovke iznosila je 67%, dušika 2% i ugljikovog dioksida 30%. Količina metana u kontrolnoj skupini svinjske gnojovke iznosila je 61%, dušika 2% i ugljikovog dioksida 30%.

ZAKLJUČAK: Klaonički otpad i svinjsku gnojovku iskoristili smo kao sirovinu u proizvodnji energije. Ulaganjem u obnovljive izvore energije smanjili bi količinu uvoza energije. Korištenjem bioplina smanjili bi potrošnju fosilnih goriva i ispuštanje velikih koncentracija stakleničkih plinova u atmosferu. Nusprodukti proizvodnje bioplina mogu se upotrijebiti kao gnojivo na obradivim površinama. Razvojem bioplinskih postrojenja povećao bi se broj zaposlenih.

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 23 5/14/2012 12:01:02 AM

PRIKAZ ISTRAŽIVANJA BIOLOGIJE I RASPROSTRANJENOSTI CRNE UDOVICE, LATRODECTUS TREDECIMGUTTATUS, ROSSI 1790, NA PODRUČJU HRVATSKE

N. Landeka

Zavod za javno zdravstvo Istarske županije, Pula, Hrvatska

Crna udovica, spada u najotrovnije životinje našeg područja pa u godinama velike pojavnosti može predstavljati i javnozdravstveni problem. Na pojavnost tijekom sezone utječu različiti čimbenici: klimatske prilike, količina hrane, prezimljavanje, predatori, paraziti itd.

CILJ: Praćenjem populacija crnih udovica na različitim staništima na hrvatskom priobalju bolje upoznati njenu biologiju i rasprostranjenost.

METODE: Kako bi bolje upoznali crnu udovicu kroz dvogodišnji period 2011-2012. prati se njena pojavnost, hranidbene navike, razmnožavanje, prezimljavanje itd. Za praćenje su odabrana poznata staništa od dubrovačkog područja, ušća Neretve, splitskog i zadarskog zaleđa (Primorski Dolac, Polača, Nin) , otok Rab (Kamenjak), otok Krk (Baška), otok Cres (Osor i Plat) i različitih staništa na području Istre (Kamenjak, Žminj, Galižana, Novigrad). Istovremeno sa praćenjem biologije u staništu, na 10 lokaliteta postavljeni su data logeri koji očitavaju 7 različitih klimatskih parametara u staništu u razmacima od 4 sata kroz dvogodišnje razdoblje.

REZULTATI: Kako je istraživanje u tijeku još nemamo statistički obrađenih rezultata istraživanja.

ZAKLJUČAK: Preliminarni rezultati upućuju na različito stanje populacija crnih udovica na različitim staništima što se može dovesti u direktnu svezu sa mikroklimatskim prilikama koje su vladale na tom području (relativna vlažnost tijekom ljetnog perioda i niske temperature u zimskom periodu koje utječu na prezimljavanje adultnih ženki).

LEAN UPRAVLJANJE U PREHRAMBENIM TVRTKAMA

A. Ivezić

Qualitas d.o.o., Zagreb, Hrvatska

CILJ: Cilj ovog rada je prikazati prednosti primjene lean upravljanja u prehrambenim tvrtkama. Lean upravljanje je generički pojam koji uključuje poslovni koncept, načela i metode čiji je zajednički cilj postizanje sve djelotvornije proizvodnje primjenom sustavnog rada na poboljšanjima. Lean organizacijama smatraju se one koje su sposobnije u kraćem vremenu i uz manje gubitke isporučiti kvalitetnije proizvode koji točno ispunjavaju neposredne potrebe kupaca.

METODE: Rad će prikazati stupanj iskorištenosti koncepata neprestanog poboljšavanja u vodećim hrvatskim prehrambenim industrijama. Teorijski dio ovog rada upotpunjen je kvalitativnim istraživanjem koje je provedeno među pet vodećih hrvatskih prehrambenih tvrtki i prikazuje stupanj iskorištenosti koncepta za neprestano poboljšavanje.

REZULTATI: Provedeno istraživanje pokazalo je da vodeće hrvatske prehrambene tvrtke poznaju i primjenjuju alate za neprestano poboljšavanje te da u idućih godinu dana planiraju ulaganja u edukaciju radnika i početak novih projekata za neprestano poboljšavanje.

ZAKLJUČAK: Kako bi se osiguralo poboljšavanje ukupnog poslovanja, vodeća hrvatske prehrambene tvrtke odlučile su se na primjenu sustava upravljanja kvalitetom, okolišem, zdravljem i sigurnošću te sigurnošću hrane. Svoje sustave upravljanja, uspostavljene prema međunarodnim normama ISO 9001, ISO 14001, OHSAS 18001 i ISO 22000, objedinile su u integrirane sustave upravljanja. Među svim tvrtkama postoji potreba za jednim zajedničkim globalnim jezikom poboljšavanja jer izazovi današnjeg vremena ne ostavljaju prostora za djelovanje na istoj razini. Koncepti za neprestano poboljšavanje bazirani na lean upravljaju predstavljaju izuzetno dobar alat za hrvatske prehrambene tvrtke.

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 24 5/14/2012 12:01:03 AM

ULOGA SANITARNE STRUKE U IZRADI SEKTORSKIH VODIČA ZA DOBRU HIGIJENSKU PRAKSU I PRIMJENU HACCP NAČELA KAO I PRIMJENI VODIČA U PRAKSI

V. Jurčević Podobnik, Đ. Pahor

Nastavni zavod za javno zdravstvo PGŽ - Rijeka

CILJEVI:
izrada vodiča DHP ima za cilj subjektima u poslovanju s hranom olakšati udovoljavanje zakonskim zahtjevima u okviru osiguranja zravstvene ispravnosti hrane,olakšati primjenu načela dobre higijenske prakse i HACCP načela.

METODE:
Za izradu vodiča koristila su se empirjska i znanstveno stručna saznanja iz područja mikrobiologije hrane, poznavanja tehnoloških postupaka u proizvodnji, pripremi i distribuciji hrane po pojedinim sektorima (ugostiteljstvo, pekarstvo, slastičarstvo, trgovina, institucionalne kuhinje) metodologija izrade dokumentacije koja je zahtjev HACCP sustava, primjena načela dobre higijenske i dobre proizvodne prakse, te poznavanje zakonskih zahtijeva u RH.

REZULTATI:
Pet nacionalnih vodiča izrađeno je, ocjenjeno i distribuirano prema odredbama propisa o hrani. Kroz vodiče su usvojena stručna i praktična znanja djelatanika Epidemiološkog odjela NZZJZPGŽ, što je bilo od velikog značaja u izradi vodiča i suradnji s radnim tijelima Ministarstva zdravlja za ocjenu vodiča.

ZAKLJUČAK:
Nadležno tijelo procjenilo je nacionalne sektorske vodiče na način da su isti izrađeni u skladu sa zakonskim odredbama, da je nijihov sadržaj primjenjiv u sektoru kojemu su namijenjeni i da su prikladni kao vodiči za udovoljavanje zahtjevima Pravilnika o higijeni hrane (NN 46/07) u dijelu koji se odnose na primjenu dobre higijenske prakse i HACCP načela. Nadležno tijelo nacionalne vodiče dostavilo je Vodiče i Europskoj komisiji čime je sudjelovanje stručnih suradnika sanitarne struke iz epidemiološkog tima NZZJZPGZ doprinjelo afirmaciji ove struke u novom - značajnom ulomku javno zdravstvene djelatnosti na području osiguranja zdravstvene ispravnosti hrane.

SAVJETODAVNA ULOGA SANITARNOG INŽENJERA U RJEŠAVANJU STRUKTURALNIH, SANITARNO TEHNIČKIH I HIGIJENSKIH PREDUVJETA U OBJEKTIMA KOJI POSLUJU HRANOM

D. Vodopija Sušanj, Đ. Pahor

Nastavni zavod za javno zdravstvo PGŽ - Rijeka

Cilj rada je prikazati savjetodavnu ulogu sanitarnog inženjera u rješavanju strukturalnih, sanitarno-tehničkih i higijenskih nedostataka u objektima koji posluju sa hranom.
Metode koje se koriste za rješavanje navedenih nedostataka čine dobra higijenska praksa, dobra proizvođačka praksa, standardni operativni procesi i standardni sanitacijski operativni procesi. Kao član multidisciplinarnog tima sanitarni inženjer surađuje sa stručnjacima građevinske i ostalih struka čije je stručno znanje važno pri adaptaciji ili gradnji objekata u kojima se posluje sa hranom, a sve u cilju stvaranja uvjeta neophodnih za pripremu sigurne i zdravstveno ispravne hrane. Sudjeluje u izradi radnih uputa vezanih za higijenu osoblja; čišćenje pribora, opreme, radnih površina i prostora; održavanje opreme i kontrole prisutnosti štetnika. Posebna pozornost posvećuje se izobrazbi i treningu osoblja kao temelj za uspješno provođenje navedenih zahtjeva.
Rezultat:
Zadovoljenjem preduvijetnih programa ostvareni su specifični zahtjevi vezani uz uspostavu, provođenje i održavanje preduvijetnih programa kao pomoći u kontroliranju opasnosti vezanih za sigurnost hrane.
Zaključak:
Diplomirani sanitarni inženjeri predstavljaju nezaobilaznu kariku pri savjetovanju i edukaciji subjekata u poslovanju s hranom. U radu će biti iznesena praktična iskustva iz djelokruga rada DSI u higijensko-epidemiološkom timu na primjeru ugostiteljskih, trgovačkih i proizvodnih djelatnosti subjekata u poslovanju s hranom na području PGŽ.

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 25 5/14/2012 12:01:03 AM

ULOGA MAGISTRA SANITARNOG INŽENJERSTVA U POSTUPKU IMPLEMENTACIJE HACCP SUSTAVA U DJEČJEM VRTIĆU

D. Budimir, Đ. Pahor

Nastavni zavod za javno zdravstvo PGŽ - Rijeka

CILJ:
Implementacija HACCP sustava u dječjem vrtiću u svrhu osiguranja zdravstveno ispravne hrane što predstavlja ispunjenje zakonske obveze proizašle iz Zakona o hrani.

METODE:
Korištenje znanstveno stručnih saznanja stečenih tijekom školovanja za magistra sanitarnog inženjerstva kroz aktivni angažman u izradi HACCP plana i provedba procesa edukacije zaposlenika o kojima direktno ovisi uspješnost provedbe sustava samokontrole.

REZULTATI:
Uz stručnai praktična znanja u izradi dokumentacije HACCP plana te upornost i ustrajnost u edukaciji zaposlenika postižu se zahtijevani rezultati: stvaranje kompetentnih zaposlenika koji su sposobni na svojoj razini rada prepoznati i nadzirati sve opasnosti koje mogu ugroziti zdravstvenu ispravnost hrane te uspostava potpuno funkcionalnog sustava samokontrole.

ZAKLJUČAK
U skladu s preventivnim djelovanjem i pozitivnom politikom Nastavnog zavoda za javno zdravstvo PGŽ, uloga magistra sanitarnog inženjerstva kroz rad u Epidemiološkom odjelu na pružanju stručnih usluga pri ispunjenju gore navedene obveze je velika jer je isti u potpunosti osposobljen voditi subjekt u implementaciji HACCP-a.

ULOGA SANITARNE STRUKE U HIGIJENSKO - EPIDEMIOLOŠKOM NADZORU NA PRIMJERU OBJEKATA ZA ŠPORT I REKREACIJU

S. Čiča , Đ. Pahor

Nastavni zavod za javno zdravstvo PGŽ - Rijeka

CILJ:
Prikaz uloge sanitarne struke u analizi i procjeni stanja i provedbe općih mjera za sprečavanje i suzbijanje zaraznih bolesti u građevinama, prostorima i prostorijama u djelatnostima na području sporta i rekreacije.

METODE:
Higijensko – epidemiološki izvidi koji uključuju analizu građevinsko – tehničkih i higijensko – sanitarnih uvjeta, stručni nadzor nad provedbom mjera dezinfekcije, dezinsekcije i deratizacije, stručni nadzor nad provedbom preventivnih mjera za smanjenje rizika od legionarske bolest, ispitivanje mikrobiološke čistoće površina, prostora i opreme. U radu će biti iznesena praktična iskustva higijensko - epidemiolškog tima Nastavnog zavoda za javno zdravstvo Primorsko - goranske županije, Rijeka na primjeru objekata za šport i rekreaciju na području Grada Rijeke.

REZULTATI:
Upravljanje zdravstvenim rizicima, postavljanje većeg higijensko -sanitarnog standarda te uspostava i vođenje dokumenata i evidencija higijenskog održavanja primjereno vrsti objekta od javnozdravstvene važnosti.

ZAKLJUČAK:
Samostalnim ili timskim djelovanjem te interdisciplinarnim pristupom sve aktivnosti sanitarnih djelatnika usmjerene su na unapređenje i očuvanje zdravlja kako pojedinaca tako i šire populacije te na prevenciju bolesti primjenom higijensko - sanitarnih i epidemioloških mjera kao i podizanjem razine svijesti, stavova i ponašanja pojedinaca i društvene zajednice.

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 26 5/14/2012 12:01:03 AM

IMPLEMENTACIJA HACCP SUSTAVA U PULSKE OSNOVNE ŠKOLE – PRIKAZ SURADNJE ZAVODA ZA JAVNO ZDRAVSTVO ISTARSKE ŽUPANIJE I GRADA PULE

S. Matanić-Stojanović, D. Ravnić

Zavod za javno zdravstvo Istarske županije, Hrvatska

CILJ:
Ovom je suradnjom bilo obuhvaćeno jedanaest škola kojima je osnivač Grad Pula.
Cilj rada je prikazati suradnju ZZJZIŽ i Grada Pule u osiguranju svih uvjeta za uspješno implementiranje HACCP sustava u kuhinje pulskih osnovnih škola.

METODE:
Tijekom 2010., 2011. i 2012. godine, kroz intenzivan rad djelatnika ZZJZIŽ na edukaciji zaposlenika osnovnih škola nastao je opsežan materijal (Planovi, Zapisi, Obrasci, fotografije) koji je korišten u radu. Grad Pula ustupio je svoje godišnje planove i realizacije za svaku školu te je aktivno bio uključen sa svojim stručnim timom.
Ravnatelji pulskih osnovnih škola i svi zaposlenici (kuhinjsko, tehničko osoblje, profesori, nastavnici) bili su uključeni u edukaciju i ostale aktivnosti.

REZULTATI:
Jedanaest pulskih osnovnih škola pohađa 4572 učenika. Školske marende konzumira 2323 učenika (50,8%), sa rasponom od 25-35% do 85-90% u pojedinim školama.
Cjelodnevnim boravkom obuhvaćen je 641 učenik (14%) koji u školi konzumiraju dva obroka – marendu i ručak. Sve škole pripremaju marende, a ručak sedam, dok se u četiri škole ručak doprema iz dječjih vrtića.
Zadovoljavajuće sanitarno-tehničke i organizacijske uvjete utvrđene analizama stanja imalo je šest škola. U preostalih pet trebalo je uložiti sredstva, odnosno zaposliti dodatno osoblje.
Tijekom 2010. i 2011. godine HACCP sustav je uveden u devet škola.

ZAKLJUČAK:
Suradnja sa Gradom Pulom dobar je primjer planskog i stručnog usmjeravanja sredstava kako bi se u pulskim osnovnim školama stvorili preduvjeti za pripremu kvalitetnih i zdravstveno ispravnih obroka.
Implementacija HACCP sustava u pulske osnovne škole preduvjet je povećanju broja učenika koji se hrane u školskim kuhinjama.

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 27 5/14/2012 12:01:04 AM

LABORATORIJSKI POKAZATELJI TERAPIJSKOG UČINKA ERITROPOETINA KOD ANEMIJE KRONIČNE BUBREŽNE BOLESTI

M. Čuljak, E. Halilović, N. Božić, N. Vrkić

Klinički bolnički centar „Sestre milosrdnice“, Zagreb, Hrvatska

Liječenje anemije kronične bubrežne bolesti (AKBB) lijekovima koji stimuliraju eritropoezu, dobro je utvrđena klinička praksa koja se posljednjih dvadesetak godina pokazala vrlo učinkovitom. Biotehnološkim postupcima proizvedeni rekombinantni humani eritropoetin (rHuEPO) najviše se primjenjuju u liječenju AKBB u bolesnika na hemodijalizi (HD). Većina bolesnika s kroničnim bubrežnim zatajenjem od II.-V. stupnja ima određeni stupanj anemije.

CILJ ISTRAŽIVANJA: U bolesnika s AKBB ispitati učinak Eprexa i Recormona na crvenu krvnu lozu i metabolizam željeza, a posebno u odnosu na primjenu intravenske terapije željezom.

Istraživane su dvije skupine (N=30) u V. fazi KBB na tromjesečnoj terapiji s rHuEPO – jedna Eprexom, a druga Recormonom. Skupine su bile ujednačenih udjela spolova i prosječne dobi od 63 god. Dio bolesnika dodatno je primao intravenski željezo.
Izmjerene su koncentracije i izražene kao srednje vrijednosti u dvije skupine: hemoglobin (107 i 109 g/L), hematokrit (0,33 i 0,34 L/L), saturacija Fe (35,5 i 28,2%) i feritin 569,5 i 552,9 µg/L). Ciljne su terapijske vrijednosti: hematokrit 0,33-0,36 L/L, saturacija Fe 30-40% i feritin 200-500 µg/L. Postignute su ciljne vrijednosti za saturaciju Fe, feritin i hematokrit i neznatno niže vrijednosti za hemoglobin.

Vrijednosti laboratorijskih parametara dokazuju jednakovrijednu djelotvornost Eprexa i Recormona. Nema razlike u postizanju optimalnih vrijednosti za bolesnike na dijalizi, bez obzira jesu li bili na terapiji intravenskim željezom. Laboratorijski nalazi temeljni su podaci za odabiranje i titriranje terapije željezom i EPO lijekovima.

ANALIZA FUNKCIJE SUSTAVA KOMPLEMENTA

V. Frigo, N. Radić

KBC Zagreb, KZLD ,Zagreb, Hrvatska

Komplementski sustav (komplement) sastoji se od skupine bjelančevina koje djeluju kao posrednici humoralne imunosti. Osim što je glavna uloga komplementa izravno ubijanje stranih stanica, on pridonosi i aktivaciji drugih obrambenih mehanizama u organizmu. Komplement se sastoji od tridesetak serumskih i membranskih bjelančevina. Serumske komponente komplementa se normalno nalaze u inaktivnom obliku. Da bi komplement mogao djelovati, najprije se mora aktivirati. U tijeku aktivacije komplementa očituju se različiti biološki učinci, među kojima su posredovanje u razvoju upalnog procesa, anafilatoksinsko djelovanje, opsonizacija, neutralizacija virusa, liza napadnute stanice i drugi. Komponente komplementa sintetiziraju se na različitim mjestima u organizmu. Većina ih nastaje u heptocitima, no mogu ih stvarati i makrofagi, monociti, epitelne stanice tankog crijeva i žučnog mjehura.
Aktivacija komplementa odigrava se slijedom kaskadnih reakcija, a može započeti na tri načina: klasičnim, lektinskim i alternativnim putem.
Najčešće promijene u vrijednostima komplementa su povišene vrijednosti, s obzirom da su komponente komplementa proetini akutne faze. Međutim puno važnije su snižene vrijednosti komplementa koje mogu ukazivati na neki imunološki poremećaj. Ukupna aktivnost komplementa (CH50) je najbolji funkcijski test za dijagnostiku takvih poremećaja. CH50 mjeri ukupnu hemolitičku aktivnost komplementa. Komplement aktiviran klasičnim putem aktivacije komplementa (od C1 do C9) lizira ovčje eritrocite koji su senzibilizirani s optimalnom količinom antieritrocitnih antitijela. CH50 se kvantificira mjerenjem količine otpuštenog hemoglobina, koja je ovisna o broju liziranih stanica. Određivanje ukupne aktivnosti komplementa je važno u dijagnostici prirođenih i stečenih deficita komplementa, kao i u dijagnostici sistemskih autoimunih bolesti.

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 28 5/14/2012 12:01:04 AM

EVALUACIJA METODE ZA ODREĐIVANJE RETIKULIRANIH TROMBOCITA NA ABBOTT CD SAPPHIRE

E. Halilović, B. Getaldić Švarc, M. Čuljak, N. Božić, N. Vrkić

KBC „Sestre milosrdnice“, Zagreb, Hrvatska

CILJ RADA:
Validirati metodu za određivanje udjela retikuliranih trombocita (Plr) i definirati njihov referentni interval.
Ispitati povezanost MPV i Plr u fiziološkim uvjetima
Ispitati potencijalne razlike udjela Plr između zdravih ispitanika i ispitanika s trombocitopenijom uzrokovanom citostaticima

MATERIJAL I METODE
Prva skupina ispitanika bile su zdrave odrasle osobe oba spola koje nisu u periodu od mjesec dana prije ispitivanja uzimali antiagregacijske lijekove (N= 144).
Druga skupina ispitanika bili su bolesnici s trombocitopenijom (trc <50x109/L) koja je uzrokovana terapijom antineoplastičkim lijekovima (N= 30).
U uzorcima venske krvi određen je broj trombocita, MPV i Plr na hematološkom analizatoru Abbott CD Sapphire.
Nepreciznost metode ispitana je ponavljanjem u seriji s 2 razine vrijednosti trombocita (N= 10).
Provjera referentnog intervala je provedena na uzorku od 144 zdrava ispitanika.

REZULTATI
Utvrđeni referentni interval Plr je 0,45- 4,56 %.
Regresijskom analizom utvrđena je povezanost MPV i Plr od 10,3 % (r2 = 0,1034) u zdravih ispitanika, a u ispitanika s trombocitopenijom povezanost je 27 % (r2 = 0,2771).
Skupina ispitanika s trombocitopenijom ima statistički značajno viši udio Plr u odnosu na zdrave ispitanike (14,1(9,7-16,1) vs. 2,28 (1,3-3,4) %; P<0,001.

ZAKLJUČAK
Ovom metodom moguća su visoko reproducibilna određivanja slijedećih kvalitativnih i kvantitativnih morfoloških karakteristika trombocita: MPV, Ptc, PDW i Plr.
Nije pronađena statistički značajna povezanost MPV i Plr u zdravih ispitanika, kao ni u bolesnika s trombocitopenijom.
Utvrđen je statistički značajno veći udio Plr u bolesnika s trombocitopenijom u odnosu na zdravu populaciju.

POWER LINK – NOVI INTEGRACIJSKI SUSTAV U LABORATORIJU

S. Jelić, D. Zec-Boronjek, Ž. Romić, A. Unić

Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku KB Dubrava, Zagreb, Hrvatska

CILJEVI: Ispitati da li se integracijom dva automatizirana sustava Beckman Coulter AU680 i Unicel DXI 600 putem Power linka, u Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku Kliničke bolnice Dubrava, skratilo vrijeme od zaprimanja uzoraka u laboratorij do izdavanja nalaza za ispitne zahtjeve iz hitne službe (TAT-eng. turnaround time).
METODE: TAT smo pratili putem laboratorijskog informacijskog sustava (LIS) firme Samson KlinLab. U LIS-u se bilježi vrijeme zaprimanja uzorka i vrijeme izdavanja nalaza. Usporedili smo TAT-ove 29 dana prije i 29 dana nakon uvođenja integracijskog sustava Power link.
REZULTATI: Prosječno vrijeme od zaprimanja uzorka do izdavanja rezultata troponina I, odnosno kompletnog nalaza iznosilo je 40 odnosno 50 minuta prije uvođenja integracijskog sustava te 42, odnosno 53 minute nakon integracije dvaju automatiziranih sustava.
ZAKLJUČAK: Točnost, preciznost, vrijeme do izdavanja nalaza i autentičnost su četiri najvažnije točke kojima se “mjeri” učinkovitost laboratorijskih usluga. Kako bi unaprijedili svoju učinkovitost jedno od rješenja je poboljšanje automatizacije laboratorijskih postupaka i integracija automatiziranih sustava. U cilju mogućeg poboljšanja TAT-a ispitnih zahtjeva iz hitne službe, ali i kako bi smanjili predanalitičke pogreške, u našem laboratoriju je donesena odluka o nabavci automatiziranog sustava Power link firme Beckman Coulter.
Rezultati ispitivanja su pokazali da se uvođenjem Power linka nije značajno promijenio TAT, no uklonjene su nesukladnosti radi alikvotiranja uzoraka za analize na dva automatizirana analizatora, te je smanjen kontakt zaposlenika s potencijalno infektivnim uzorcima.

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 29 5/14/2012 12:01:04 AM

ANALITIČKA VERIFIKACIJA METODE ROCHE TINA-QUANT HEMOGLOBIN A1C, GEN. 2 NA ANALIZATORU ROCHE COBAS INTEGRA 400 PLUS

V. Šimičević, M. Kelšin, Ž. Lipovšek Dunimagloski, M. Blažetić, B. Međimurec, M. Sekol, S. Božičević

Zavod za kliničku kemiju i laboratorijsku medicinu, KB Merkur, Zagreb, Republika Hrvatska

CILJEVI: Hemoglobin A1c, jedinstvena mjera regulacije glikemije, desetljećima se koristi kao „zlatni standard“ u praćenju šećerne bolesti. Nove smjernice za laboratorijske analize u dijagnostici i liječenju šećerne bolesti, definiraju analitičke kriterije za određivanje HbA1c – dozvoljeni KV% za preciznost iznosi < 2%. Kako bi ostvarili zadane kriterije za određivanje HbA1c u Zavodu za kliničku kemiju i laboratorijsku medicinu, uvedena je imunoturbidimetrijska metoda za HbA1c na analizatoru Roche COBAS INTEGRA 400 plus i urađena kratka analitička verifikacija.

METODE: Verifikacija metode (COBAS INTEGRA Tina-quant Hemoglobin A1c, Gen.2) provedena je kroz slijedeće pokazatelje:
- Provjera slučajne pogreške (preciznost) prema EP15-A2 protokolu
- Provjera mjernog područja (linearnost)
- Procjena mjerne nesigurnosti: iz sastavnica mjerne nesigurnosti

Definirani su analitički ciljevi kvalitete za preciznost (KV%):
- prema veličini biološke varijacije: 1,7%
- prema proizvođaču reagensa (Roche):
za koncentracijsku razinu I – 1,3% za koncentracijsku razinu II – 1,0%
- prema smjernicama Američkog udruženja za dijabetes (ADA): 2,0%

Na osnovu navedenih verifikacijskih pokazatelja učinili smo završnu ocjenu prihvatljivosti metode.

REZULTAT: Ukupna laboratorijska preciznost je iznosila 0,9% za koncentracijsku razinu HbA1c od 5,46%, te 0,8% za razinu od 8,91%. Linearnost mjernog područja za ukupni hemoglobin je 2,5 – 21,7 mmol/L, dok je za HbA1c od 0,2 – 1,61 mmol/L i potvrđena je multikalibracijskom krivuljom. Iz sastavnica mjerne nesigurnosti procjenjena je proširena mjerna nesigurnost od 3,0% za koncentracijsku razinu od 5,46% HbA1c te 2,8% za razinu od 8,91% HbA1c.

ZAKLJUČAK: Ispitivana metoda za određivanje HbA1c na analizatoru Roche COBAS INTEGRA 400 plus zadovoljava postavljene kriterije i prikladna je za rutinsko određivanje.

ULOGA LABORATORIJSKOG TEHNIČARA U PREPOZNAVANJU PSEUDOTROMBOCITOPENIJE OVISNE O ETILENDIAMINTETRAOCTENOJ KISELINI (EDTA)

Lj. Mikan[1], A. Popov[1], M. Kovačević[1], M. Kajfeš[1], M. Barišić[2], M. Tomičić[1]

[1]Odjel za trombocitnu i leukocitnu dijagnostiku i hemostazu,
Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu, Zagreb
[2]Osiguranje kvalitete u transfuzijskoj medicini,
Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu, Zagreb

UVOD: Pseudotrombocitipenija (PSTP) je lažno sniženi broj trombocita ovisan o antikoagulantnoj otopini (etilendiamintetraoctena kiselina-EDTA), izmjeren hematološkim brojačem stanica. PSTP je laboratorijski fenomen (artefakt) koji se opaža samo „in vitro“, dok je broj trombocita u cirkulaciji ispitanika normalan. Uzrokovana je dodirom krvi ispitanika s EDTA u epruveti, što dovodi do promjena u strukturi trombocitne membrane. Izlaganje glikoproteina na površini trombocita omogućuje vezanje heterofilnih protutijela IgG/IgM razreda, prisutnih u krvi ispitanika, na vlastite trombocite. Posljedica je imunološka reakcija agluti-

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 30 5/14/2012 12:01:05 AM

nacije. Nakupine trombocita (agregati) hematološki brojač stanica ne prepoznaje kao trombocite, zbog njihove veličine. Rezultat je lažno sniženi broj trombocita. Agregate trombocita brojač svrstava u leukocite, uz napomenu o neobičnoj populaciji leukocita ispred rezultata za ukupan broj leukocita.

CILJ RADA: prepoznati pseudotrombocitopeniju ovisnu o EDTA tijekom određivanja broja trombocita na hematološkom brojaču stanica. Potvrditi rezultate probira određivanjem broja trombocita u uzorku krvi uzetom na natrijev citrat. Spriječiti nepotrebne dijagnostičke i terapijske postupke u ispitanika s dokazanom lažnom trombocitopenijom.
MATERIJAL I METODE: U ovom radu učinjeno je probirno ispitivanje pseudotrombocitopoenije u 123 ambulantna ispitanika koji su u HZTM-u došli na određivanje antitrombocitnih protutijela u šestomjesečnom razdoblju. Svim ispitanicima je određen broj trombocita u EDTA i Na citratnom uzorku krvi. Broj trombocita izmjeren je na hematološkom brojaču stanica Sysmex-KXN21 i Abbot Celldyne.

REZULTATI: PSTP-EDTA dokazana je u 18/123 (14.6%) ispitanika. U svih ispitanika u uzorku krvi uzetom na natrijev citrat izmjeren je normalan broj trombocita.
Z
AKLJUČAK:PSTP se može prepoznati analizom napomena uz rezultate određivanja broja stanica na hematološkom brojaču. Na PSTP ukazuju: napomena o prisutnosti agregata uz rezultat broja trombocita (AG) i oznaka o neobičnoj populaciji leukocita uz broj leukocita (*). Potvrda nalaza PSTP određivanjem broja trombocita u uzorku krvi uzetom na natrijev citrat omogućuje točno određivanje broja trombocita u bolesnika u budućnosti i sprječava nepotrebno laboratorijsko ispitivanje i liječenje.

ODREĐIVANJE BROJA TRIPLETA CAG U MOLEKULARNO-GENETIČKOJ DIJAGNOSTICI HUNTINGTONOVE BOLESTI KAPILARNOM ELEKTROFOREZOM

H. Ljubić, Lj. Juričić, A. Merkler, D. Caban, K. Petrović, S. Telarović, M. Relja, J. Sertić

KBC Zagreb, KZLD, Zagreb, Hrvatska

UVOD I CILJ: Huntingtonova bolest (HD) je autosomno dominantna neurodegenerativna nasljedna bolest koja se očituje kao psihijatrijski, kognitivni i poremećaji kretanja. Prevalencija HD iznosi 3-7 na 100,000 osoba u populacijama europskog podrijetla. Prvi simptomi se najčešće pojavljuju od 35. do 45. godine života, a očekivano trajanje života nakon pojave simptoma je oko 15 godina. Bolest izaziva mutacija u eksonu 1 gena HTT u kojem je došlo do ekspanzije ponavljanja tripleta CAG. Osobe koje imaju alel sa više od 35 CAG tripleta, vrlo vjerojatno će tijekom života razviti simptome bolesti. Cilj ovog istraživanja bio je postaviti što pouzdaniju metodu za rutinsku molekularno-genetičku laboratorijsku analizu pacijenata sa kliničkom dijagnozom Huntingtonove bolesti, te utvrditi njezine granice pogreške.

METODE: Korištena je genomska DNA kako bi se umnožio fragment gena HTT u kojem se nalazi mutacija povezana sa simptomima Huntingtonove bolesti. U reakciji PCR korištene su početnice označene fluorescentnom bojom 6-FAM (6-karboksifluorescein), a za određivanje veličine alela HTT molekularni standard veličine LIZ. Uzorci DNA analizirani su na uređaju AB Genetic analyzer 3130xl metodom kapilarne elektroforeze na polimeru POP-7.

REZULTATI: Korišteni uzorci DNA su analizirani u duplikatu u tri ponavljanja. Dobiveni rezultati pokazuju da kod normalnih alela dolazi do odstupanja za ±1 dok kod ekspandiranih alela dolazi do odstupanja do ±2 ponavljajuća slijeda tripleta CAG.

ZAKLJUČAK: Utvrđeno odstupanje zadovoljava preporuke za korištenje u rutinskoj laboratorijskoj molekularno-genetičkoj dijagnostici Huntingtonove bolesti. Za alele koji se nalaze između normalnog i intermedijarnog raspona, te intermedijarnog i ekspandiranog, preporučuje se analiza sekvenciranjem kako bi se sa sigurnošću utvrdio broj ponavljanja tripleta CAG.

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 31 5/14/2012 12:01:05 AM

ULOGA ODREĐIVANJA STATUSA GENA KRAS U KOLOREKTALNOM KARCINOMU

D. Caban, I. Rako, J. Jakić-Razumović, D. Katalinić, J. Sertić

KBC Zagreb, KZLD, Zagreb, Hrvatska

UVOD I CILJ: Kolorektalni karcinom (CRC), jedan je od najčešćih zloćudnih tumora i među vodećim je uzrocima smrtnosti od raka u razvijenom svijetu. Razvoju ove zloćudne bolesti pridonosi vrlo složen i dugotrajan proces usko povezan s međudjelovanjem vanjskih i genetskih čimbenika. Aktivacija onkogena KRAS značajna je u kolorektalnoj karcinogenezi, a prisutnost KRAS mutacije može se dokazati u više od 30% uzoraka kolorektalnog karcinoma (CRC).

METODE: Za određivanje statusa gena KRAS korišteni su bioptati tkiva karcinoma debelog crijeva uklopljeni u parafinske blokove. Izdvajanje DNA se provodi pomoću kompleta reagenasa QIAamp DNA FFPE Tissue Kit (Qiagen). Status gena KRAS određuje se metodom lančane reakcije polimerazom (engl. polymerase chain reaction – PCR) u stvarnom vremenu - Real Time-PCR (Roche LightCycler®480 Real-Time PCR System) postupkom apsolutne kvantifikacije pomoću kompleta reagenasa TheraScreen®KRAS Mutation Kit CE-IVD koji služi za detekciju sedam somatskih mutacija gena KRAS.

REZULTATI: Od ukupno 115 analiziranih uzoraka s kolorektalnim karcinomom, u 45 (39%) uzoraka utvrđena je točkasta mutacija na kodonu 12 ili 13. Kod 22 bolesnika utvrđena je mutacija Gly12Val (GGT>GTT), 10 bolesnika imaju mutaciju Gly12Asp (GGT>GAT), 6 bolesnika Gly13Asp (GGC>GAC) te po tri bolesnika mutaciju Gly12Ser (GGT>AGT) i Gly12Cys (GGT>TGT).

ZAKLJUČAK: Možemo zaključiti da je određivanje statusa gena KRAS kod bolesnika s kolorektalnim karcinomom vrlo korisno jer omogućava predviđanje koristi od imunoterapije. Time se postiže stvarno individualizirano liječenje i smanjuju nepotrebne nuspojave, a ujedno se optimizira korištenje novca u zdravstvu. Kombiniranje ciljanih terapija s prediktivnim biomarkerima ne samo da poboljšava učinkovitost u ciljanoj skupini bolesnika, nego i korist bolesnika od primijenjenih lijekova.

NASLOV: BAKTERIJEMIJE I FUNGEMIJE U HEMATOLOŠKIH BOLESNIKA LIJEČENIH TIJEKOM 2005.-2010. NA KBC ZAGREB

M. Anđelić[1], M. Slivar-Renić[1], M. Jandrlić[1], J. Horvatić[1], S. Žic[1], M. Medved[1], M. Skuliber[2], V. Družinić[2], N. Rustan[2], A. Šepak[2], S Kalenić[1], V. Plečko[1], A. Presečki-Stanko[1], S. Pleško[1] B. Labar[2], D. Nemet[2], I. Aurer[2], J. Kern[5], Ž. Justinić[4], J. Jakić-Razumović[3], J. Batinić[2], Z. Perić[2], N. Duraković[2], R. Serventi-Seiwerth[2], D. Sertić[2], M. Pisk-Mikulić[2], S. Zupančić-Šalek[2], I. Radman[2], M. Mrsić[2].

Klinički bolnički centar Zagreb, Hrvatska; Klinički zavod za kliničku i molekularnu mikrobiologiju[1], Zavod za hematologiju[2], Zavod za patologiju[3], Služba za informatiku[4] Zavod za medicinsku statistiku, epidemiologiju i medicinsku informatiku, Škola Andrija Štampar[5], Medicinski fakultet Zagreb, Hrvatska.

Bakterijemije i fungemije su važne infektivne komplikacije liječenja osnovne zloćudne hematološke bolesti. One produljuju liječenje i povećavaju smrtnost. **CILJEVI** retrospektivnog rada su epidemiološka svojstva bakterijemija i fungemija tijekom 2005.-2010., analizom elektronskih baza podataka.

METODE: Ukupno je bolničko liječenje trajalo 81.741 dan (medijan 14.024, raspon 9.450-16.106 dana). Krajem 2009. i prve polovine 2010. zbog renoviran-

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 32 5/14/2012 12:01:05 AM

ja hematoloških odjela, bolesnici su bili smješteni na drugim odjelima, uz manji broj liječenih. Bočice hemokultura su kultivirane u automatskim aparatima za detekciju rasta mikroorganizama, te su obrađene uobičajenim postupcima.

REZULTATI: Dokazano je 2.234 različitih epizoda tj. 27,3 na 1.000 bolničkih dana, ukupno s 4.036/32.823 (12,3%) pretraga, izolata. Polimikrobnih epizoda je bilo 54,1% (1.209/2.234). Prosječno trajanje epizoda dulje >2 dana je bilo u 15,6%, a sa >2 izolata u 41,8%. Najučestalije su epizode gram-pozitivnim uzročnicima, slijede gram-negativnim, nonfermentorima, fungima i anaerobima (76,8%, 10%, 9,3%, 2,7%, 1,2%) medijan (288, 39, 37, 10, 5). Najučestaliji uzročnici u tim epizodama su koagulaza-negativni stafilokoki 79,3%, enterobakterije 71,9%, pseudomonasi 94%, te propionibakterije. Među gljivama najčešće su Candida parapsilosis 29,3%, Candida krusei 19% i Candida albicans/dubliniensis 17,2%. Najkraće (>2 dana) je trajanje gram-pozitivnih epizoda 11,3%, a najdulje gljivičnih u 56,9%.

ZAKLJUČCI: Na raznolikost mikrobioloških epizoda utječe težina i liječenje osnovne hematološke bolesti. U drugom periodu 2008.-2010., signifikatno su najdulje liječeni alogeno transplantirani bolesnici, učestalije su gram-pozitivne epizode, a gram-negativne su kraćeg trajanja s manje izolata. Među epizodama nonfermentorima učestaliji su ostale vrste pseudomonasa, uz trend duljeg trajanja s više gljivičnih izolata. Epidemiološki podaci pomažu dokumentiranoj antibiotskoj profilaksi i terapiji.

ZNAČAJ PRAĆENJA PRIJEANALITIČKIH INDIKATORA U ANALITICI LIJEKOVA

S. Sabljak, E. Šarlija, R. El Barq, A. Karadžić, I. Ožvald

Zavod za kliničku kemiju i laboratorijsku medicinu, KB Merkur, Zagreb, Republika Hrvatska

CILJ: Analitika lijekova važan je segment laboratorijske dijagnostike. U optimiziranju individualne terapije nakon transplantacije posebno mjesto ima prijeanalitička faza. Uzorci se moraju uzimati u odgovarajuće vrijeme i u odgovarajuće spremnike, te obrađivati u definiranim uvjetima koji osiguravaju minimalnu promjenu koncentracije lijeka.

MATERIJALI I METODE: U 2011. godini koncentracije imunosupresiva (ciklosporina, takrolimusa, sirolimusa, everolimusa, mikofenolne kiseline) antibiotika (vankomicina) i digoksina određene su kod 14100 bolesnika. Praćenje prijeanalitičkih indikatora obuhvatilo je neodgovarajuće označavanje uzoraka i/ili zahtjeva, neodgovarajuću kvalitetu i kvantitetu uzorka, te neodgovarajuću pripremu i/ili dostavu uzorka.

REZULTATI: Tijekom jedne godine zabilježeno je 739 nesukladnosti cijelog radnog procesa, od čega je 97% nastalo u prijeanalitičkoj fazi. Najveći udio nesukladnosti odnosio se na neadekvatnu kvalitetu (66%) i kvantitetu uzorka (24%), te na neadekvatno označavanje uzoraka i/ili uputnice (7,5%). Zabilježeni prijeanalitički indikatori kvalitete u analitici lijekova odnosili su se na neadekvatno označavanje uputnice i nedovoljnnu kvantitetu uzoraka. U odnosu na 2010. godinu uočen je blagi trend pada evidentiranih prijenalitičkih indikatora u analitici lijekova.

ZAKLJUČAK: Uvođenjem laboratorijskog informatičkog sustava i analizatora za razdiobu uzoraka, značajno se smanjila učestalost identifikacijskih pogrešaka. Određivanjem serumskih indeksa omogućena je objektivna procjena kvalitete uzorka i značaj interferencije hemolize, lipemije i ikterije pri analizi uzoraka seruma imunoturbidimetrijskim metodama. Obradom uzoraka pune krvi pri određivanju koncentracije imunosupresiva uklanja se učinak endogenih fluorescentnih sastojaka koji bi mogli interferirati u imunokemijskoj reakciji. Kontrolom preciznosti i točnosti pipetiranja, brzine i vremena centrifugiranja, temperature inkubacije, postignuta je standardizacija u prijeanalitičkoj fazi, što značajno povećava pouzdanost laboratorijskih nalaza u analitici lijekova.

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 33 5/14/2012 12:01:06 AM

TRANSFUZIJSKA SLUŽBA U TRANSPLANTACIJI

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

Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu, Zagreb

CILJ: Informiranje zdravstvenih djelatnika i javnosti o važnosti transfuziološke službe u transplantacijskoj medicini.

UVOD: Transplantacija organa je uspješna metoda liječenja bolesnika kod kojih je došlo do zatajenja u radu nekog za život važnog organa. Sve poslove vezane za transplantaciju koordinira Ministarstvo zdravstva. Transfuzijska djelatnost je uključena u postupke dijagnostike donora organa na viruse biljega krvlju prenosivih bolesti. Transfuzijska služba u svojoj djelatnosti prikuplja,obrađuje i prerađuje krv u krvne pripravke (KP), te mora osigurati dovoljno krvnih pripravaka za potrebe liječenja bolesnika u RH, uključujući i transplantacijske postupke. Mali broj zdravstvenih djelatnika zna da je za jednu uspješnu transplantaciju jetre potrebno osigurati 50 dobrovoljnih darivatelja krvi. Za jednu transplantaciju jetre po utvrđenoj shemi priređuje se 10 koncentrata eritrocita sa smanjenim brojem leukocita (KE), 12 doza svježe smrznute plazme (SSP), 8 doza koncentrata trombocita(KT) i 2 krioprecipitata.

REZULTATI: U razdoblju od 01.07.2011.-31.12.2011. samo za transplantacije jetre u KB Merkur pripremljeno je i utrošeno 585 doza KE s križnom probom , 125 pool-a KT, 1024 doze SSP i 83 doze krioprecipitata. Transplantacija jetre učinjena je kod 40 bolesnika.

ZAKLJUČAK: Iz dobivenih rezultata vidljivo je da transfuzijska služba ima važnu ulogu u transplantaciji jetre. Informiranost zdravstvenog osoblja, dobro planiranje uzimanja krvi od dobrovoljnih davatelja i racionalna potrošnja krvnih pripravka rezultirat će dostatnim brojem doza na skladištu za podmirenje svih zahtjeva tijekom jedne godine .

PRIKAZ BOLESNIKA S FENOTIPSKI HLA IDENTIČNIM PRESATKOM BUBREGA I POZITIVAN TEST REAKCIJE ODBACIVANJA POSREDOVANE CITOTOKSIČNIM LIMFOCITIMA T

M. Svetec, I. Humar

Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju, Klinička jedinica za kulturu tkiva i transplantacijske biomarkere, Klinički bolnički centar Zagreb, Hrvatska

UVOD: Nakon transplantacije bubrega razlika u tkivnim antigenima daje poticaj za razvoj reakcije odbacivanja presatka. Pogoršanje funkcije nije vezano samo uz odbacivanje, može biti i posljedica reaktivacije virusne infekcije. Ovim radom želimo dati kratki prikaz slučaja primatelja bubrega s kliničkom slikom odbacivanja i mogućnostima dijagnostičkih testova stanične i humoralne imunosti vezanih uz HLA biljege.

METODE: Testiran je bolesnik G.P., muškog spola, 48 godina, PRA 22%, koji je primio transplantat bubrega HLA identičnog mrtvog darivatelja. Unutar 1 mjeseca od transplantacije dobivena su tri uzroka (10., 15. i 30. dana) za testove CML (limfoliza posredovana stanicama), ADCML (stanično posredovana limfoliza ovisna o non-HLA antitijelima) , PRA (% panel reaktivnih anti HLA antitijela) i x-match sa stanicama davatelja, pod sumnjom reakcije odbacivanja.

REZULTAT: Testiranja uzoraka 10. i 15. dana poslije tranplantacije dali su negativan rezultat u CML/ADCML-u, 30. dan dobivamo pozitivan test CML. x-match testovi su negativni a PRA se spuštao s vremenskim odmakom. U međuvremenu bolesniku se dijagnosticira aplazija crvenih krvnih stanica .

ZAKLJUČAK: Negativni rezultati CML/ADCML testova i humoralne imunosti u skladu su s očekivanim, jer se radi o HLA identičnom presatku. Izuzetak pozitivnog CML testa i daljnjom analizom spekuliramo da CML nije pokazao reakciju odbacivanja već moguću reaktivaciju virusne infekcije. Predloženo testiranje na parvovirus B19, koji u imunokompromitiranih domaćina može biti uzrokom aplazije crvenih stanica, pokazuje pozitivan titar za IgG antitijela. Daljnja virusološka testiranja su u tijeku. Nije nepoznato da virusi aktivacijom citotoksičnih limfocita T u CML testu mogu dati lažno pozitivnu reakciju odbacivanja.

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 34 5/14/2012 12:01:06 AM

NADZOR UPORABE OPASNIH KEMIKALIJA U ZAVODU ZA KLINIČKU KEMIJU I LABORATORIJSKU MEDICINU KB MERKUR U ZAGREBU, AKREDITIRANOM PREMA NORMI HRN EN ISO 15189:2008

M. Sekol, E. Šarlija, B. Idžaković, Lj. Paović, J. Vojvodić, M. Tkalčić, M. Frntić, R. Mesić, S. Perkov

Zavod za kliničku kemiju i laboratorijsku medicinu, KB Merkur, Zagreb, Republika Hrvatska

CILJEVI: Jedan od značajnijih potencijalnih rizika za zdravlje i sigurnost laboratorijskih djelatnika je uporaba opasnih kemikalija. Zbog toga provodimo konzistentnu politiku nadzora njihove uporabe te potičemo promjene u ponašanju djelatnika.

METODE: 1. Zakonska regulativa
Radi zaštite od štetnog djelovanja opasnih kemikalija HRVATSKI SABOR je proglasio Zakon o kemikalijama i Zakon o izmjenama i dopunama zakona o kemikalijama. Sukladno tome sve djelatnosti iz domene laboratorijske medicine identificirale su, prema znakovima opasnosti, proizvode koji sadrže kemikalije opasne za zdravlje,
2. Operativna provedba
Ministarstvo zdravstva i socijalne skrbi, na temelju zakona o kemikalijama, donijelo je Pravilnik o načinu vođenja očevidnika o opasnim kemikalijama te o načinu i rokovima dostave podataka iz očevidnika.
On uređuje način vođenja očevidnika i dostave podataka Hrvatskom zavodu za toksikologiju i antidoping. Obaveza vođenja očevidnika odnosi se na kemikalije označene sa: T+ (vrlo otrovno), T (otrovno), Xn (štetno), C (nagrizajuće) i Xi (nadražujuće)
Koriste se obrasci:
•Očevidnik o uporabi opasne kemikalije -obrazac br. 7.
•Zbirni očevidnik o opasnim kemikalijama - obrazac br. 8.

REZULTATI:•Sve opasne kemikalije pohranjujemo zaključane u označenim metalnim ormarima s odzračnicima na inox podmetačima.
•Za svaku pojedinačnu kemikaliju dostupni su sigurnosno tehnički listovi.
•Za sve kemikalije vodi se inventarni kontrolni sustav prema zahtjevu norme ISO 15189.
•Za svaku opasnu kemikaliju vodimo propisani očevidnik.

ZAKLJUČAK: U zaštiti sigurnosti i zdravlja djelatnika trajno je potrebno promicati promjene ponašanja, prema zakonu i akreditacijskim zahtjevima, posebice u rizičnim skupinama kao što su novi mladi ljudi, pripravnici i nisko kvalificirani zaposlenici.

HISTOKEMIJSKE METODE PRIKAZIVANJA FIBRINA: USPOREDBA TRIKROMNOG BOJANJA PO MASSONU I MARTIUSU

H. Frketić,A. Brajenić, L. Matahlija, A. Dunat

Zavod za patologiju, Medicinski fakultet u Rijeci, Rijeka, Hrvatska

UVOD: U patohistološkoj dijagnostici javlja se potreba za dokazivanjem fibrina u cilju pouzdane dijagnoze trombotskog procesa ili žarišta imunološkog oštećenja. Iako se imunohistokemijska metoda smatra specifičnijom, u rutinskom radu se najviše koriste histokemijske metode.

CILJ ISTRAŽIVANJA: Cilj istraživanja bio je usporediti dvije metode bojanja fibrina: trikromno bojanje po Massonu (MTB) i Martius/Scarlet/Blue bojanje (MSB), utvrditi da li postoje razlike u kvaliteti bojenja i moguće prednosti određene metode.

MATERIJALI I METODE: Korišten je bioptički materijal koji je sadržavao fibrin kao dio ugruška ili fibrinoidne nekroze: tkivo testisa s vaskulitisom, posteljica s fibrinoidnom nekrozom resica i interviloznim fibrinom, tkivo zalistka u reumatskom endokarditisu te srce i pluća s tromboziranim žilama. Preparati su narezani i obojeni po protokolu za MTB i MSB.
REZULTATI: U obje metode vezivo je plavo, svježi fibrin crvene boje, dok se eritrociti boje različito: crveno

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 35 5/14/2012 12:01:06 AM

s MTB-om, a žuto s MSB-om. MSB razlikuje eritrocite od crvenih niti fibrina što omogućuje lakše uočavanje svježeg fibrina u tkivu posteljice te unutar malih tromboziranih krvnih žila. Pomaže i u razlikovanju fibrinoidne nekroze od krvarenja u stjenkama krvnih žila. Za razliku od depozita fibrina na površini zalistka, fibrinoidna nekroza u tkivu zalistka bolje se prikazuje pomoću MSB-a, posebice u debljim rezovima. Stari fibrin u intravaskularnim trombima boji se plavo s MTB-om i bolje se razlikuje od trombocitnog ugruška u odnosu na sivosmeđe obojenje s MSB-om.

ZAKLJUČAK: MSB ima prednosti u prikazivanju svježeg fibrina u malim žilama i područjima fibrinoidne nekroze, dok MTB bolje razlikuje stari fibrin od trombocitnog ugruška.

CITOLOŠKE METODE DOKAZIVANJA KARCINOMA JAJNIKA

V. Medvidović[1], R. Peša[1], M. Pušić[1], B. Trbušić[1], T. Beus[2]

KBC " Sestre milosrdnice", Zagreb
[1]Klinika za tumore, KJ za citologiju,
[2]Klinički zavod za patologiju "Ljudevit Jurak"

UVOD: Rak jajnika je po učestalosti ginekoloških karcinoma na trećem mjestu iza raka vrata matrnice i endometrija. Po smrtnom ishodu je na prvom mjestu. Za razliku od vrlo uspješne metode skrininga ranog otkrivanja raka vrata maternice, danas još uvijek ne postoji znanstveno potvrđena metoda ranog otkrivanja raka jajnika,. Bolest se često otkrije u uznapredovaloj fazi sa pojavom nakupljanja tekućine u abdominalnoj šupljini . Intraoperativno se tekući materijal šalje u laboratorij na citološku obradu.

CILJ: Citomorfološkom dijagnostičkom analizom stanica doprinjeti dokazivanju karcinoma jajnika koristeći nekoliko metoda bojenja.

METODE: 1.Diff quick-bojenje
2.Bojenje po MGG-u
3.Imunocitokemijskom metodom (AP)

Od navedenih metoda ističemo važnost Diff quick bojenja u kojem sudjeluje naš tim citotehnolog-specijalist citolog. Proces obrade materijala, od trenutka dolaska u laboratorij,njegove pripreme centrifugiranjem, bojanjem te citomorfološkom analizom stanica traje 6-8 minuta. Hitni nalaz se javlja operateru što predstavlja vrlo važnu informaciju u daljnjem tijeku operativnog procesa. Bojenjem po MGG-u nakon sušenja i fiksiranja na zraku traje od 23-25 min.
Imunocitokemijska metoda je najzahtjevnija a sastoji se u: fiksiranju, demaskiranju antigena što se postiže kuhanjem u specijalnom puferu, te automatskom bojenju koje radi na principu upotrebe palete specifičnih protutjela za karcinom jajnika.

REZULTATI: Morfološkom analizom malignih stanica obojenih metodom Diff quick i po MGG-u potvrđena je dijagnoza karcinoma jajnika upotrebom specifičnih primarnih protutijela: Ca 125 +, BerP4 +, CK 7 +, CK 20 -.

ZAKLJUČAK: Svaka od navedenih metoda ima svoje prednosti i nedostatke.
Prednost Diff quicka je u njegovoj brzini izvođenja, a nedostatak u slabijem morfološkom prikazu. Metoda bojenja po MGG-u u morfološkom prikazu pokazala se mnogo boljom. Imunocitokemijska metoda kao najspecifičnija zahtijeva najduže vrijeme trajanja.

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 36 5/14/2012 12:01:07 AM

USPOREDBA BIELSCHOWSKY i AgNOR METODE U PRIKAZU SENILNIH PLAKOVA KOD SENILNE DEMENCIJE TIPA ALZHEIMER

T. Bušić, R. Grabar, J. Simčić

Zavod za patologiju, Medicinski fakultet u Rijeci, Rijeka, Hrvatska

Cilj rada je bio usporediti uspješnost prikaza proteinskih senilnih plakova histokemijskim metodama baziranim na impregnaciji srebrom. Senilni plakovi jedno su od morfoloških obilježja karakterističnih za senilnu demenciju tipa Alzheimer koja se histološki dokazuje. Plakovi su građeni primarno od proteina. U svrhu njihovog prikaza standardno se koristi metoda Bielschowsky. Obzirom da plak sadrži proteinski elemente nuklearnog neuronalnog porijekla činilo se da bi primjena AgNOR metode mogla dati zadovoljavajući rezultat u njihovom prikazu.
U sekcijskom materijalu koji je histološki potvrdio kliničku dijagnozu senilne demencije tipa Alzheimer preuzete su regije u kojima su se našli specifični depoziti na standardnom HE preparatu. Nakon toga su na istom materijalu primjenjene obje metode s ciljem usporedbe.
Utvrđeno je da se metodom Bielschowsky prikazuju svi očekivani strukturni elementi i plakovi, dok je primjena AgNORa dovela do selektivnijeg prikaza plakova i njihove strukture.
Obzirom na veću zahtjevnost Bielschowsky metode i u slučajevima kada je potrebno specifično identificirati senilne plakove pokazala se superiornijom primjena AgNORa koja se može preporučiti.

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 37 5/14/2012 12:01:07 AM

INTERAKCIJA BAKTERIJE ACINETOBACTER BAUMANNII I AMEBE ACANTHAMOEBA CASTELLANII

M. Matešić, J. Šerifović, Dž. Sijamhodžić, E. Pašić, I. Gobin

Zavod za mikrobiologiju i parazitologiju, Medicinski fakultet, Rijeka, Hrvatska

CILJ RADA: Cilj ovog rada bio je ispitati odnos bakterije Acinetobacter baumannii i amebe Acanthamoeba castellanii. A. baumannii je aerobna, gram – negativna bakterija koja s obzirom na visoku sposobnost preživljavanja u vrlo nepovoljnim okolišnim uvjetima ima vrlo značajnu ulogu kao uzročnik bolničkih infekcija. Kako je ova bakterija otporna na isušivanje ispitano je i da li sušenje utječe na odnos ove bakterije s amebom.

METODE RADA: U pokusima je korištena aksenična kultura A. castellanii ATCC 30234, te klinički izolat A. baumannii. Ispitivan je broj adherentnih i internaliziranih bakterija tijekom 2, 4 i 6 sati kokultivacije i omjer bakterija i ameba je iznosio 10:1. Bakterije su bile izložene laminarnom strujanju zraka u komori za sterilni rad, kroz 1 sat. Nakon toga, sušene bakterije čuvane su na sobnoj temperaturi. U različitim vremenskim intervalima, bakterije su nakon izlaganja sušenju rehidrirane dodatkom PYG medija i ameba i inkubirane na 35 °C kroz 2 sata. Zatim je određivan broj adherentnih i internaliziranih bakterija.

REZULTATI: Tijekom koinfekcije u trajanju od 2, 4 i 6 sati raste broj adherentnih i unutarstaničnih bakterija po pojedinom terminu. Isto tako, acinetobakter uspješno adherira na amebe i nakon 30 dana izlaganja sušenju. Do internalizacije bakterija u amebe dolazi i nakon 7 dana izlaganja sušenju.

ZAKLJUČAK: S obzirom na dobivene rezultate možemo zaključiti kako je A. baumannii vrlo otporan mikroorganizam te da je u bolničkoj sredini potrebno primjeniti vrlo stroge mjere sanitizacije, te učestalo kontrolirati prisutnost ove bakterije i ameba kao njihovih potencijalnih rezervoara infekcije.

UTJECAJ MIKROBIOTE NA PREŽIVLJAVANJE LEGIONELA

M. Potočnjak, M. Široka, D. Rebić, I. Gobin

Zavod za mikrobiologiju i parazitologiju, Medicinski fakultet, Sveučilište u Rijeci, Hrvatska

Legionele su široko rasprostranjene u prirodi i predstavljaju značajan javnozdravstveni problem. Kako se najčešće nalaze u vodenim sredinama, glavni put prijenosa je putem vode, odnosno vodenim aerosolom, ali može ih se naći i u vlažnoj zemlji. Kišnica je dobar alternativni izvor pitke vode u domaćinstvu i kao takva se često koristi u krškim krajevima i na otocima. Kako legionele mogu dugo preživljavati u različitim vrstama vode, zanimalo nas je koliko će dugo preživjeti u kišnici te ima li popratna mikrobiota utjecaj na njezino preživljavanje. Analizirane su dvije vrste legionela: Legionella longbeachae i Legionella pneumophila kroz trideset dana. Za istraživanje su odabrana dva uzorka kišnice, uzorak kišnice s velikim brojem bakterija i uzorak sa puno nižim brojem bakterija različitih vrsta. Kako bi pratili utjecaj mikrobiote vode na preživljavanje legionela, voda je filtrirana. Rezultati pokazuju da L. pneumophila može dugo opstati u kišnici, ali i da joj više odgovara niska razina bakterijske mikrobiote. Preživljavanje L. longbeachae ovisno je o prisutnosti mikrobiote vode. Mikrobiota vode je dovela do sniženja broja vijabilnih legionela u vodi tijekom trideset dana.

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 38 5/14/2012 12:01:07 AM

NEUČINKOVITOST PROVOĐENJA RhD IMUNOPROFILAKSE U TREĆEM MILENIJU

V. Matuš, N. Ivošević, Ž. Hundrić-Hašpl, Z. Kruhonja-Galić, N. Juraković Lončar, M. Balija, I. Jukić

Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu, Zagreb, Hrvatska

UVOD: u HZTM se provodi imunohematološko ispitivanje Rh D negativnih trudnica s prisutnim anti-D protutijelima. Pritom se sakupljaju anamnestički podaci iznjihovih prijemnih listića o primjeni hiperimuniog anti-D imunoglobulina nakon svih imunizacijskih podražaja. Iz prethodnih radova poznato je da se hiperimuni anti-D ne primjenjuje ili se neučinkovito primjenjuje te dolazi do razvoja anti-D imunizacija koje mogu ugroziti fetus i novorođenče.

CILJ RADA: Ispitati dali je primjena hiperimunog anti-D imunoglobulina odgovarajuća i postoji li smanjenje postotka anti-D imunizacija kod Rh D negativnih žena u periodu 2009.-2011. god. u odnosu na period od 2000.-2008. god.

MATERIJAL I METODE: U radu su analizirani rezultati imunohematoloških ispitivanja seruma 3009 RhD negativnih trudnica i anamnestički podaci iz njihovih prijemnih listića.

REZULTATI: Od 3009 RhD negativnih trudnica kod 54 (1,8%) dokazana su anti-D protutijela. Od njih 38 razvilo je anti-D protutijela iako su u cilju prevencije primile hiperimuni anti-D imunoglobulin, dok njih 16 nisu nikada bile obuhvaćene terapijom.

ZAKLJUČAK: Dobiveni rezultati prosječne učestalosti anti-D imunizacija trudnica dobiveni u razdoblju od 2009.-2011. su istovjetni s podacima u razdoblju od 2000.-2008. i pokazuju da je RhD imunoprofilaksa još uvijek nedostatna i neodgovarajuća.

COCULTURE OF AMOEBA ACHANTAMOEBA CASTELLANII AND BACTERIA CAMYPLOBACTER JEJUNI

J. Šerifović, M. Marković, M. Matešić, I. Maričić, D. Vučković, I. Gobin

Zavod za mikrobiologiju i parazitologiju, Medicinski fakultet, Sveučilište u Rijeci, Hrvatska

CILJ: Campylobacter jejuni is one of the leading causes of bacterial gastroenteritis in developed countries. C. jejuni has been isolated in water and has been proven to cause hydro-infections. It is also known that protozoa can influence the growth of different pathogenic bacteria, but little is known about the influence of free-living amobae on C. jejuni. In this study we explore the relationships during a coculture of Acanthamoeba castellanii and one strain of C. jejuni.

METODE: A coculture of A. castellanii (ATCC 30234) trophozoites and C. jejuni in three different media (PYG, PYG without glucose and PAGE media) at 37°C was established. After 24, 48 or 72 h, the cocultures were plated on blood agar to count CFU. For controls bacteria were incubated in the same conditions without amoebae. Moreover, at various times, the samples of the suspensions were examined by light microscopy. The number of adherent bacteria during 24 hours coculture in three diferent media was also tested.

REZULTATI: In the coculture experiments, the presence of A. castellanii induced a major increase in C. jejuni growth in PYG media and PYG media without glucose, compared to the control. Decreased number of C. jejuni in PAGE media was detected. The results showed that C. jejuni well adhere on the amoeba and that the number of adherent bacteria increases during infection.

ZAKLJUČAK: In conclusion, the growth of C. jejuni is favored by A. castellanii under certain conditions. And therefore, in water systems, a special attention should be paid to the presence of free living amoebae, which can constitute a reservoir of C. jejuni in the environment.
Key words: Campylobacter jejuni, Acanthamoeba castellanii, interaction, reservoar of infection

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 39 5/14/2012 12:01:08 AM

IMUNOLOŠKE PROMJENE STANOVNIKA U RAZVIJENIM INDUSTRIJSKIM PODRUČJIMA

I. Šutić, A. Bulog, V. Mićović

Zavod za javno zdravstvo, Medicinski fakultet Rijeka

CILJEVI: učestalost pojave raznovrsnih bolesti okoliša (iz. engl. environmental diseases) u visoko razvijenim industrijskim područjima u posljednjih je nekoliko desetljeća u ogromnom porastu. Neophodno je razvijati nove sveobuhvatnije pretrage s ciljem očuvanja i poboljšanja javnozdravstvenih uvjeta, te pronalaženja novih metoda zaštite stanovništva i prevencije bolesti. U ovom istraživanju željeli smo ispitati imunološki status stanovništva u blizini razvijene naftne industrije i usporediti rezultate s kontrolnom skupinom ruralnog stanovništva.

METODE: koristili smo metodu protočne citometrije kojom smo ispitali fenotipsku pripadnost pojedinih limfatičnih stanica (CD3+, CD4+, CD8+, CD (16+56)+, NKT stanica: CD3+(16+56)+, i CD19+) iz periferne krvi stanovnika industrijskog i ruralnog područja.

REZULTATI: naši podatci ukazuju na značajne imunološke promjene stanovnika industrijski razvijenih središta u odnosu na ruralno stanovništvo, koje se očituju u prisutnoj limfopeniji, praćenoj padom prirođene i stečene stanične imunosti. Izloženost ljudi prvenstveno benzenu i toluenu, kao stalnim produktima izgaranja fosilnih goriva, dovodi u ljudi koji žive i rade u neposrednoj blizini zagađenih područja do statistički značajnog pada ukupnog broja limfocita, naročito CD4+T limfocita, B stanica i NK stanica

ZAKLJUČAK: Naši rezultati ukazuju na činjenicu da čimbenici okoliša značajno pobuđuju aktivnost prirođenog i stečenog imunološkog odgovora, te bi njihovo praćenje pomoglo ranijem otkrivanju ovih promjena i pomoglo prevenciji bolesti okoliša.

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 40 5/14/2012 12:01:08 AM

ARTEFAKTI U HISTOPATOLOGIJI ILI KO JE KRIV?

S. Milenković

Služba kliničke patologije, Kliničko bolnički centar Zemun-Beograd, Srbija

APSTRAKT

Cilj ovog revijalnog prikaza je da ukaže na kritične tačke u patohistološkoj obradi uzoraka u kojima može doći do pojave artefakta i ukratko opiše najvažnije među stotinama mogućih artefakta. Prepoznavanje artefakta i poznavanje uzroka zbog kog nastaje je ključ dobre komunikacije između laboratorijskih tehničara i patologa u garant obezbeđenja kvalitetnog rada. Artefakti mogu biti podeljeni u dve grupe: artefakta koji nastaju pre obrade tkivnih preparata u patohistološku laboratoriju, a drugu grupu čine artefakti koji nastaju prilikom obrade tkivnih preparata u patohistološkoj laboratoriji. Na sistematičan način su opisani najvažniji artefakti kao i načini njihovog nastanka.

Ključne reči: patohistologije, artefakt, laboratoprijski tehničar, patolog

Artifacts in histopathology, or who is guilty?

Milenkovic M. Sanja

Department of Clinical pathology

Clinical Hospital Center Zemun, Belgrade, Serbia

ABSTRACT

The aim of this review presentation is to highlight the critical points in the processing of pathohystological samples, where they can cause artifacts, as well as, briefly describe the most important among the hundreds of possible artifacts. Recognition of artifacts and knowledge of the causes for which it occurs is the key to good communication between laboratory technicians and pathologists and guarantee of quality work. Artifacts can be divided into two groups: artifacts that occur before processing histological tissue preparations in the laboratory and artifacts that occur during processing of tissue preparations in pathohystological laboratory. Systematically describes the most important artefacts and ways of their occurrence.

Key words: histopathology, artifact, laboratory technician, pathologist

UVOD

Reč ARTEFAKT je nastala od latinskih reči *ars* “obrada” i *facere* “napraviti”. U arheologiji se koristi kao naziv za predmete koje su napravili ljudi od drveta, kosti ili kamena[1]. U patologiji je opšte prihvaćeno da je artefakt neka vrsta greške, ali to ipak nije greška. Artefakti su različiti defekti ili anomalije koji se uoče

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 41 5/14/2012 12:01:08 AM

u presecima tkiva i koji nisu svojstveni uzorku tkiva. Neophodno je prilikom uzorkovanja, procesiranja i ostalih postupaka u izradi histopatološkog preparata poštovati standardne procedure i protokole te na taj način smanjiti na minimum mogućnost pojave artefakta. Nije greška, ali se krivac traži. Prepoznavanje artefakta i poznavanje uzroka zbog kog nastaje je ključ dobre komunikacije[2] između laboratorijskih tehničara i patologa u garant obezbeđenja kvalitetnog rada. Neki artefakti se lako prepoznaju, ali neki mogu predstavljati ozbiljnu dilemu. Cilj ovog revijalnog prikaza je da ukaže na kritične tačke u patohistološkoj obradi uzoraka u kojima može doći do pojave artefakta i ukratko opiše najvažnije među stotinama mogućih artefakta u nameri da pomogne, pre svega laboratorijskim tehničarima patohistološkog usmerenja da poboljšaju kvalitet svog rada.

Artefakti u histopatologiji

Artefakti grubo mogu biti podeljeni u dve grupe. Prvu grupu artefakta čine artefakti koji nastaju pre obrade tkivnih preparata u patohistološku laboratoriju. Čest naziv za ove artefakte je "prefiksacioni artefakti" (Tabela 1.) i nastaju u tkivu pre fiksiranja tkiva. Oni mogu biti posledica: egzogenog unošenja različitih supstanci u tkivo pre hirurške intervencije (pigment za tetovažu npr.), hirurške procedure (oštećenja od laserskih noževa tzv. "crush" artefakti), egzogenog unošenja različitih supstanci u tkivo tokom hirurške intervencije ili kontaminacije tokom rukovanja tkiva pre disekcije uzoraka. Ovakvi tipovi artefakta su veoma česti i rizik od njihovog nastajanja se može smanjiti pažljivim rukovanjem i zaštitom tkiva od kontaminacije [3].

Rb.	Naziv artefakta	
1.	Toplotni artefakti	Najčešći uzrok ovog artefakta je upotreba laserskih noževa koji dovode do toplotne fiksacije tkiva
2.	Prisustvo šavnog materijala	Je veoma često prateći detalj operativnog preparata
3.	Kontaminacija celulozom, želatinom, skrobom, "tato" pigmentom, intravitalnim bojama, bakterijama…	Je posledica fizioloških postupaka tokom životnih aktivnosti, uobičajenih operativnih procedura ili mehaničkog manipulisanja tkivom tokom uzorkovanja.
4.	Oštećenje nastalo od katetera	Oštećenje nastalo od plasiranja katetera tokom hirurške intervencije je veoma često i dovodi do ljuštenja površinskog sloja epitela.
5.	"Kraš" artefakti	Nastaju usled primene biopsijskih kliješta ili drugih hirurških instrumenata
6.	Nekroza tkiva zbog primene hemostatičkih agenasa	Nekroza tkiva zbog primene hemostatičkih sredstava je posledica koagulacije u maksimalnoj dubini od 0,6mm.
7.	Postmortalne promene	one predstavljaju degenerativne promene koje se javljaju u tkivu neposredno posle prestanka dotoka krvi
8.	Artefakti zbog smrzavanja	Javlja se u mnogim laboratorijama koje praktikuju da uzorak koji je obrađen smrzavanje potom procesiraju fiksacijom i kalupljenjem u parafinski kalup.

Tabela 1. Prikaz najčešćih prefikcasionih artefakta

Drugu grupu artefakta čine artefakti koji nastaju prilikom obrade tkivnih preparata u patohistološkoj laboratoriji (Tabela 2.)

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 42 5/14/2012 12:01:09 AM

Rb.	Artefakti	Naziv artefakta	Značenje
1.	**Artefakti koji nastaju prilikom fiksacije tkiva**	Zonalna fiksacija	Čest artefakt koji nastaje zbog loše penetracije formalina. Reprezentativni uzorci dimenzija 1x1x 05 cm rešavaju ovaj problem
		Prisustvo formalinskog pigmenta	Nastaje u tkivima bogatim krvlju ili kod produžene fiksacije
2.	**Artefakti tokom procesiranja tkiva**	Retrakcija krvnih sudova	Ovaj artefakt je veoma čest u CNS i manifestuje se haloom oko krvnih sudova kao posledica retrakcije krvnih sudova. Produžena fiksacija sa korišćenjem hloroforma sprečava nastajanje ovog artefakta.
		Loše procesiranje	Loše procesiranje najčešće zbog: brzog procesiranja, loših reagenasa, reagenasa isteklog roka trajanja, mehaničke greške u procesoru dovodi do narušavanja arhitekrure tkiva.
3.	**Artefakti prilikom kalupljenja tkiva**	Loša veličina i loša orjentacija uzorka	Neophodna je posebna pažljivost i patologa i laboratorijskog tehničara da ne bi došlo do ove vrste artefakta
4.	**Artefakti prilikom sečenja i poklapanja tkiva**	Previše debeo presek	Svi navedeni artefakti susvojstveni radu na mikrotomu koji pored poznavanja samog rada aparata zahteva iskustvo, marljivost, određenu meru individualnosti a nadasve dobrog učitelja.
		Rupe u tkivnom preseku	
		Linije od noža "fenomen venecijanskih zavesa"	
		Fragmentisanje uzorka	
		Fine pukotine na tkivnom preseku	
		Grube neravnine	
		Mehurići u preseku	
		Prekomerno širenje preseka	
4.	**Artefakti tokom bojenja tkiva**	Ostaci parafina	Brižljiva deparafinizacija je garant uspešnosti standardnih, histohemijskih i imunohistohemijskih bojenja.
		Nekompletno bojenje	Najčešće su posledica propusta u nekoj od ranijih faza procesiranja tkiva
		Depoziti boje	
		Kontaminiran rastvor boje	Ovi artefakti nastaju najčešće zbog neregularnog čuvanja, skladištenja i pripreme različitih rastvora boje
		Kontaminacija mukusom	

Tabela 2. Prikaz najčešćih artefakta koji nastaju tokom procesiranja tkiva

I. Artefakti koji nastaju pre obrade tkivnih preparata u patohistološku laboratoriju

Laboratorijski tehničari i patolozi u svojoj svakodnevnoj praksi mnoge od ovih artefakta precizno prepoznaju. Ipak, neophodno je istaći i ponoviti one koji mogu uzrokovati ozbiljnu grešku u dijagnostici.

Toplotni artefakti se karakteristično javljaju na hirurškim recekcionim marginama. Karakterišu se izraženom acidofilijim (eozinofilijom) u delu uzorka blizu margina pri čemu su izgubljeni ili nejasni nuklearni i citoplazmatski detalji. Vezivno tkivna vlakna bivaju koagulisana, a glandularno tkivo vakuolisano. Posledice delovanja toplote su dehidratacija i denaturacija proteina koje dovode do koagulacije i kondenzacije i povećane acidofilije vezivnog tkiva u odnosu na tkivo koje nije pretrpelo toplotno dejstvo.

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 43 5/14/2012 12:01:09 AM

Međutim, lokalna oštećenja toplotom mogu nastati na još nekoliko tačaka tokom obrade tkiva. Korišćenje pretoplog parafina, korišćenjem pretoplih pinceta i stavljanjem preseka tkiva na toplu ploču ili sterilizator neprilagođene temperature su rizične tačke na koje laboratorijski tehničari moraju da obrate posebnu pažnju.

Šavni materi**jal** se pored rutinske upotrebe u hirurgiji veoma često koristi da se pojedini detalji bitni za analizu, po proceni hirurga (najčešće resekcione margine) obeleže. U operativnom preparatu mogu biti jasno makroskopski vidljivi, i tada se rutinski uklanjaju pre uzorkovanja tkiva. Međutim, mogu biti u unutrašnjosti operativnog preparata, makroskopski nevidljivi te na taj način bivaju ili poprečno ili longitudinalno presečeni prilikom sečenja parafinskog bloka. Iskusni patolozi te detalje na HE preparatima veoma jasno prepoznaju. Postojanje šavnog materijala, praktično nema patološki značaj, ali može dovesti do oštećenja noža mikrotoma ili poremetiti liniju sečenja.

Kontaminacija operativnog preparata je posledica fizioloških i proceduralnih postupaka tokom životnih aktivnosti pacijenata, uobičajenih operativnih procedura i postupaka tokom hirurške intervencije ili tokom mehaničkog manipulisanja tkivom tokom uzorkovanja. *Celuloza* se veoma često nalazi u lumenu creva u slučajevima kada se isti dobro ne isperu pre uzorkovanja materijala. Iako nema patološki značaj celuloza može uzrokovati cepanje tkiva prilikom sečenja. Patološki može biti zanimljiva ukoliko se nađe kao nepoznata struktura u sklopu tumora, ali iskusni patolozi prepoznaju njen karakterističen izgled biljnih ćelija sa jasno obojenim ćelijskim zidom kvadratnog oblika. U patohistološkoj laboratoriji celuloza se može mehanički utisnuti prilikom uzorkovanja tkiva jer je sastavni deo papira, gaze ili plute koji se koriste rutinski. Želatinski artefakti nastaju tokom hirurških intervencija jer se različite suspstance na bazi apsorptivnog želatina u formi tankog filma ili sunđera koriste kako bi se kontrilisalo krvarenje. S obzirom na to, da adheriraju za tkivo mogu biti sastavni deo preseka. Na histološkom preparatu se uočavaju u formi blago bazofilne želatinozne mase, različite debljine i mogu sadržati ćelije krvi ili druge ćelijske elemente. Patologu sa iskustvom koji uoči nepostojanje tkivne reakcije je jasno da se radi o skoro nanetoj stranoj materiji. *Skrob* se koristi u hirurškim procedurama (talkiranje rukavica) te se može naći kao prateći elemenat tkivnog uzorka. No, nije retko da on bude sastavni deo granuloma koji se naknadno uklanjaju posle neke hirurške intervencije. Skrob se teško identifikuje na HE bojenju. Granule skroba pokazuju tendenciju da budu sferične i ponekad imaju tamnu središnu tačku. Skrob će se veoma intenzivno obojiti sa PAS bojenjem. *Korišćenje intravitalnih boja* u obeležavanju margina ili kontaktnih endoskopskih procedura može dovesti do penetracije boje u tkivo[5]. Kontaminacija tkiva[3] tkivom drugog uzorka nastaje najšeće kao posledica ne ispiranje noževa ili radne površine posle prethodnog uzorkovanja nekog drugog tkiva. Delići tkiva ili ćelije se mogu preneti preko disekcionih instrumenata. Takođe, kasete za tkiva ili drugi predmeti koji se koriste tokom procesiranja mogu sadržati deliće drugog tkiva. Teorijski postoji mogućnost da kroz rešetkaste kasete tokom procesiranja tkiva ćelije pređu u drugu rešetkastu kasetu, ali korišćenjem posebnih kesica takva mogućnost se može prevazići.

Nekroza tkiva zbog primene hemostatičkih sredstava[3] *(*Monsels solution), posebno na sluznicama i koži, je posledica koagulacije u maksimalnoj dubini od 0,6mm. Sredstva sadrže feri subsulfate koji se deponuju difuzno i bivaju fagocitovani od strane makrofaga. Tkivo pokazuje izraženu bazofiliju, parcijalnu deskvamaciju i ogoljenje epitela kao znake rane nekroze . Ova vrsta artefakta se može sprečiti uzimanjem biopsijskog uzorka pre primene ovog sredstva. Takođe u patohistološkoj laboratoriji se može primeniti tretiranje preseka tkiva sa 0,5%hidrohloridnom kiselinom u 70% etanolu 60min. u trajanju od 1 sat pre bojenje. Opisana procedura znatno poboljšava HE bojenje.

Postmortalne promene predstavljaju degenerativne promene koje se javljaju u tkivu neposredno posle prestanka dotoka krvi. One nastaju zbog autolize hidrolitičkim enzimima koji izlaze iz rupturirane membrane mitohondrija. Patolozima su promene poznate nukelarne promene (karioreksa, kariopiknoza, karioliza) sa ili bez citoplazmatske vakuolizacije. Na ove promene su glanduralni epiteli veoma osetljivi i promene su izraženije na autopsijskim uzorcima tkiva. Neposredna fiksacija je imepartiv za izbegavanje

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 44 5/14/2012 12:01:09 AM

ovih promena, ili čuvanje uzoraka pre fiksacije na 4°C.

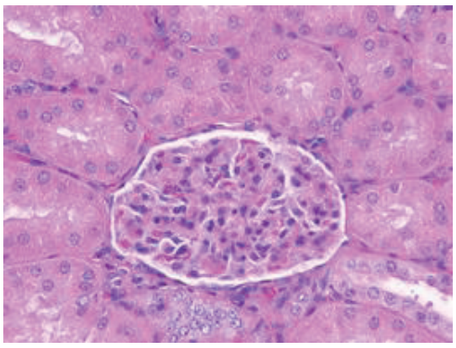
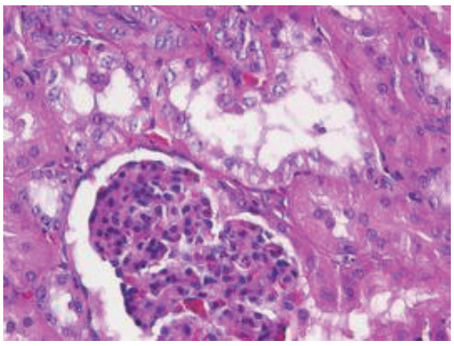
Artefakti zbog smrzavanja se javljaju u mnogim laboratorijama koje praktikuju da uzorak koji je obrađen smrzavanje potom procesiraju fiksacijom i kalupljenjem u parafinski kalup. Tkivni uzorak koji se smrzavan uvek ima oštećenje od kristala leda. Postoji mogućnost da se oko jedra stvara svetao halo i jedro tada ima manji izgled sa kondenzovanim tamnije obojenim hromatinom. Generalno detalji citoplazme i jedra nisu dobro sačuvani. No, bitno je znati da takve promene nisu uniformne kroz ceo preparat i iregularne su distribucije.

II Artefakti koji nastaju prilikom obrade tkivnih preparata u patohistološku laboratoriju

U svakoj stepenici obrade tkiva je moguće da nastane artefakt[6,7,8] (Tabela 2.). Neophodna je tesna komunikacija patologa i laboratorijskog tehničara, kontinuirana saradnja i nadasve veliko poverenje da bi se izbegla mogućnost nastajana artefakta, pre svega zbog tačnosti dijagnoze i dobrobiti pacijenta.

Artefakti koji nastaju prilikom fiksacije tkiva

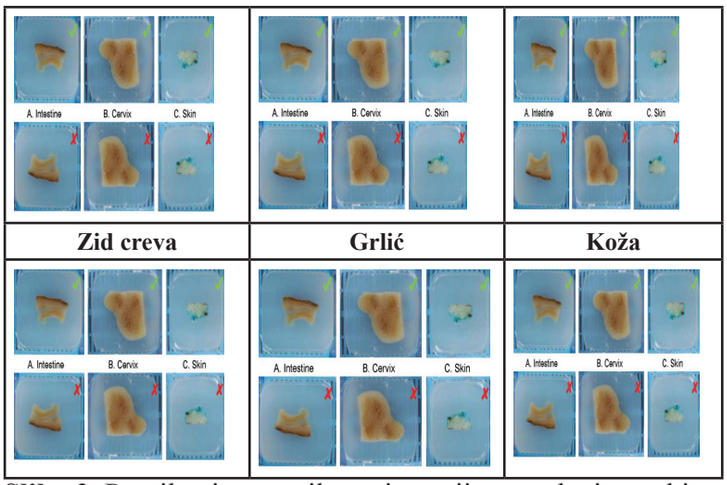
Fiksacija[4] je kritična stepenica u pripremi patohistoloških preparata. Ukoliko se ne sprovodi prema optimalnim uslovima može da ugrozi celokupan postupak izrade preparata (Slika 1.).

	
Reprezentativan preparat tkiva fiksiranog u neutralnom formalini sa dobrom nuklearnom i citoplazmatskom morfologijom i minimalnim prostorom pored bazalne membrane	Nereprezentativan uzorak nedovoljno fiksiran takođe u neutralnom formalinu sa lošim nuklearnom i citoplazmatskom morfologijom i velikim haloom oko bazalne membrane

Slika 1. Prikaz dobe i loše formalinske fiksacije

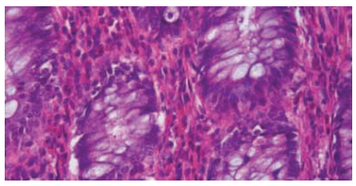
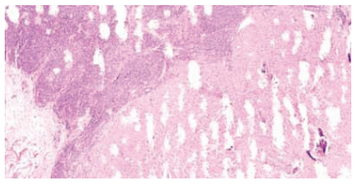
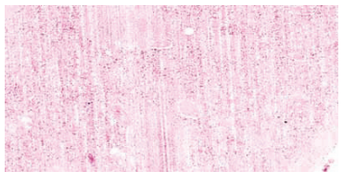
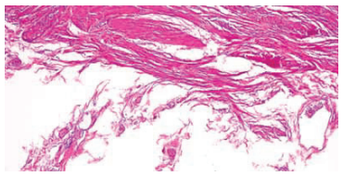
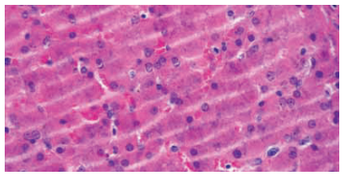
Artefakt **deponovanje formalinskog pigmenta**[9] se karakteriše prisustvom braon, fino granuliranog pigmenta u, ili u blizini krvnih sudova. Uobičajeno se viđa u tkivu koje je bogato krvlju (slezina) i u tkivu koje je prolongirano fiksirano, što je slučaj kod mnogih autopsija. Ova reakcija nastaje u tkivima bogatim krvlju zato što kiseli formalin reaguje sa hemoglobinom i stvara kiseli formaladehid hematin. Kod dugotrajne fiksacije puferovani formalin dosta dugo može da štiti tkivo ali vremenom snaga pufera slabi te se u tkivu pojavljuje formalinski pigment. Artefakt može da se ukloni ukoliko se presek tkiva tretira saturiranom alkoholnom pikrinskom kiselinom pre bojenja. **Artefakti prilikom kalupljenja tkiva**[10] najčešće nastaju zbog nereprezentativan uzorka tkiva. Preveliki, predebeo, loše isečen uzorak ne pruža mogućnost laboratorijskom tehničaru da napravi dobar kalup. Takođe korišćenje parafina neregularne temperature može naknadno oštetiti tkivo. prilikom sečenja neophodno je uvek ravnu stranu (Slika 2.) okrenuti ka sečivu nože kako bi se izbegli artefakti sečenja.

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 45 5/14/2012 12:01:09 AM



Slika 2. Pravilna i nepravilna orjentacija uzoraka istog tkiva

Artefakti prilikom sečenja tkiva su brojni.[11] Ova faza izrade patohistoloških preparata je prepuna rizike. Opis i uzrok nastajanja najvažnijih artefakti je prikazan u Tabeli 3.

Rb.	Vrsta artefakta	Uzrok nastajanje	Izgled artefakta
1.	Previše debeo presek	Pravljenja suviše debelog preseka (Slika 1.) najčešće nastaje zbog pogrešnog mikrometarskog podešavanja, sečenje na velikoj brzini, uzimanje prvog preseka za dalju obradu, prethodno loše obrade ili zbog nekalibrisanog mikrotoma.	
2.	Rupe u tkivnom preseku	Rupe u tkivnom preseku nastaju zbog grubog poliranja bloka ili ne ispolirane površine bloka posle grubog ravnanja, prebrzog "trimovanja" bloka ili previše rashlađen blok,	
3.	Linije od noža "fenomen venecijanskih zavesa"	To su vertikalne pruge u preseku nastale zbogoštećenog sečiva noža, oštećeno,tkivo je prethodno loše obrađeno, u tkivu postoji čvrst material kao što je kalcijum, kontaminirani vosak jer nije dobro isfiltriran ili se u uzorcima nalaze nataložene soli.	
4.	Fragmentisanje uzorka	Fragmentisanje uzorka nastaje kao posledica grubog manipulisanja tkivom, loše prethodne obrade, grubo ravnanje bora tokom flotacije uzorka. flotacija u previše toplu vodu ili nepravilna orjentacija kalupa	
5.	Fine pukotine na tkivnom preseku	Fine pukotine na tkivnom preseku su posledica suviše hladnog bloka, prebrzog sečenja, labavog steznog mehanizma mikrotoma, ili ne podešenog ugla sečiva.	

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 46 5/14/2012 12:01:11 AM

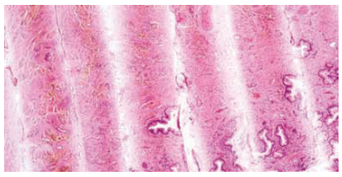
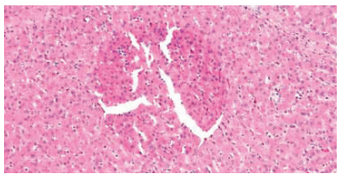
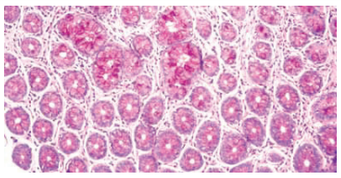
6.	Grube neravnine	Grube neravnine su posledica labavog steznog mehanizma mikrotoma, prevelikog uzorka, loše prethodne obrade, nepodešenog ugla držača noža, pomeranja mikrotoma ili prebrzog sečenja.	
7.	Mehurići u preseku	Mehurići u preseku predstavljaju artefakt koji nastaje kada se naravnomerno spuštaju osnova i bočne strane u flotaciju i dolazi do zarobljavanja vazduha	
8.	Prekomerno širenje preseka	Prekomerno širenje preseka tokom flotacije zbog pretople vode u vodenom kupatilu, ili zbog predugog boravka preseka u toploj vodi, ili zbog prethodne loše pripreme tkiva.	

Tabela 3. Prikaz najvažnijih artefakta koji nastaju prilikom sečenja tkivnih blokova

Artefakti tokom bojenja tkiva[12]

Bojenje predstavlja veoma osetljivu fazu obrade uzoraka. Bilo da je reč o automatizovanom bojenju, ili manuelnom bojenju neophodna je velika brižljivost. Najveći problem nastaju kod dugotrajno čuvanna tkiva koja po prirodi uzgube svoja uobičajena svojstva i zaprljaju se česticama prašine. Drugi problem mogu predstavljati nereprezentativni rastvori boje kojima je istekao rok trajanja, dugo stoje ili pak su kontaminirani i nisu dobro filtrirani.

Zaključak

Savremene i modern tehnologije svakodnevno poboljšavaju kvalitet našeg rada. U međusobnoj komunikaciji laboratorijski tehničar i patolog moraju da ostvare najviši mogući novi saradnje kako bi izbegli zamke rutinskog posla. Preciznost kao posebno važna dimenzija uspešnosti rada u patohistološkoj laboratoriji najbolje rezultate donosi kada se kombinuje sa iskustvom.

Literatura

1. http://hr.wikipedia.org/wiki/Artefakt update 19:29, 6. listopada 2011.
2. Orlić M, Milenković S, Vojinović M. Medicinsko etički odnos lekara prema sebi i prema kolegama. Apolineum medicum et aesculapium. 2006;4(3-4):20-23.
3. Rolles OG, Farmer RJ, hall JB. Artifacts in Histological and Cytological Preparations. Sciencia Leica Microsystem Education Series, 2008
4. Milenković S, Jovanović-Zrilić S. Priprema tkiva za primenu imunohistohemije. Materia Medica 2008;24(3):33-40

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 47 5/14/2012 12:01:12 AM

5. Jovanovic MB, Milutinovic Z, Perovic J, Grubor A, Milenkovic S, Malobabic S.Vocal fold mucosa "blue lines" observed on contact telescopy at Reinke's edema. J Voice. 2009 Jul;23(4):512-5. (IF: 1.587)

6. Rolls G. 101 Steps to Better Histology. Melbourne: Leica Microsystems, 2008.

7. Wick RM, Mills CN, Brix WK. Tissue Procurement, Processing, and Staining Techniques.In Diagnostic Histochemistry, Ed. Wick RM, Cambridge University Press, 2006

8. Drury RAB, Wallington EA. Carleton's histological technique. 5th ed. New York: Churchill Livingstone, 1980.

9. Eltoum I, Fredenburgh J, Myers RB, Grizzle WE. Introduction to the theory and practice of fixation of tissues. J Histotechnol 2001;24;173 -190.

10. Winsor L. Tissue processing. In Woods A and Ellis R eds. Laboratory histopathology. New York: Churchill Livingstone, 1994;421 - 439.

11. Williams JH, Mepham BL, Wright DH. Tissue preparation for immunocytochemistry. J Clin Pathol 1997;50;422-428.

12. Carson FL. Histotechnology. 2nd ed. Chicago: ASCP Press, 1997.

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 48 5/14/2012 12:01:12 AM

SPONZORI

Organizacijski odbor Kongresa najsrdačnije zahvaljuje svima koji su pružili nesebičnu financijsku potporu organizaciji ovog skupa.

BIOGNOST®
DIJAGNOSTIČKI REAGENSI MEDICINSKI PROIZVODI

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

Basler
OSIGURANJE ZAGREB

MERCK

NASTAVNI ZAVOD ZA JAVNO ZDRAVSTVO PRIMORSKO-GORANSKE ŽUPANIJE
1900.
Rijeka

MEDIC

Meditex

MEDICINSKA TEHNIKA
INEL
ZAGREB

INTERKLIMA

INKO
OSNOVANO
1935

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 49 5/14/2012 12:01:21 AM

Dizajn i grafička obrada: Neven Sučić

BIOGNOST®
DIJAGNOSTIČKI REAGENSI MEDICINSKI PROIZVODI

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

Basler
OSIGURANJE ZAGREB

Tehnički organizator, prijave i tisak KONTAKT TOURS d.o.o.
Gundulićeva 3, 10000 Zagreb, HRVATSKA – CROATIA
Id kod: HR-AB-01-080057963, OIB: 54235200130
Tel: 00385 (0)1 4830 737, 4830 738; Fax 4830 735
e-mail: kontakt@zg.t-com.hr www.kontakttours.hr

1. KONGRES HKZR KNJIŽICA SAŽETAKA.indd 50 5/14/2012 12:01:21 AM